



TUGAS AKHIR — SB 141510

**PEMANFAATAN TEKNIK RAPD DALAM  
DETEKSI KERAGAMAN GENETIK PADI (*Oryza  
sativa* L.) VARIETAS BAHBUTONG TAHAN  
CEKAMAN KEKERINGAN HASIL IRADIASI**

PINKA LANGLANGDEWI N.  
1513100079

Dosen Pembimbing  
Triono Bagus Saputro, S.Si., M. Biotech.

Departemen Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya 2017



TUGAS AKHIR — SB 141510

**PEMANFAATAN TEKNIK RAPD DALAM  
DETEKSI KERAGAMAN GENETIK PADI (*Oryza  
sativa* L.) VARIETAS BAHBUTONG TAHAN  
CEKAMAN KEKERINGAN HASIL IRADIASI**

**PINKA LANGLANGDEWI N.  
1513100079**

**Dosen Pembimbing  
Triono Bagus Saputro, S.Si., M.Biotech.**

**Departemen Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya 2017**



FINAL PROJECT — SB 141510

**DEVELOPMENT OF RAPD TECHNIQUES IN  
GENETIC DIVERSITY DETECTION OF  
IRRADIATED DROUGHT-TOLERANT RICE  
(*Oryza sativa* L.) VARIETY BAHBUTONG**

**PINKA LANGLANGDEWI N.  
1513100079**

**Advisor  
Triono Bagus Saputro, S.Si., M.Biotech.**

**Department of Biology  
Faculty of Mathematics and Natural Sciences  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya 2017**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PEMANFAATAN TEKNIK RAPD DALAM DETEKSI  
KERAGAMAN GENETIK PADI (*Oryza sativa* L.)  
VARIETAS BAHBUTONG TAHAN CEKAMAN  
KEKERINGAN HASIL IRADIASI**

**TUGAS AKHIR**

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
Pada  
Program Studi S-1  
Departemen Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

**PINKA LANGLANGDEWI N.  
NRP. 1513100079**

**Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :**

Triono Bagus Saputro, S.Si., M.Biotech... (Pembimbing)

Surabaya, 25 Juli 2017

Mengetahui,  
Kepala Departemen Biologi



**Dr. Dewi Indrawati, S.Si., M.Si**  
NIP. 1969/121 199802 2 001

**PEMANFAATAN TEKNIK RAPD DALAM DETEKSI  
KERAGAMAN GENETIK PADI (*Oryza sativa* L.)  
VARIETAS BAHBUTONG TAHAN CEKAMAN  
KEKERINGAN HASIL IRADIASI**

**Nama Mahasiswa : Pinka Langlangdewi N.**  
**NRP : 1513 100 079**  
**Jurusan : Biologi**  
**Dosen Pembimbing : Triono Bagus Saputro, S.Si.,  
M.Biotech.**

***Abstrak***

*Padi merupakan salah satu komoditas pangan penting. Di Asia, padi yang memiliki pigmen unik seperti merah, ungu, hitam, coklat, kuning dan hijau yang telah banyak dibudidayakan dan dikonsumsi. Padi varietas Bahbutong termasuk salah satu varietas beras merah asli Sumatera Utara yang telah dikeluarkan sejak tahun 1985 dan hanya cocok ditanam di lahan sawah saja. Saat ini belum terdapat penelitian yang melaporkan mengenai ketahanannya pada kondisi kering.*

*Pada penelitian ini padi varietas Bahbutong di induksi keragaman genetiknya dengan teknik iradiasi sinar gamma dosis 0 Gy, 100 Gy, 200 Gy dan 300 Gy selanjutnya biji di kecambahkan. Biji yang mampu berkecambah di subkultur pada media seleksi yang mengandung PEG 6000 dengan konsentrasi 0%, 10%, 20% dan 30%. Klon hasil seleksi yang menunjukkan ketahanan akan dikonfirmasi perbedaan karakter genetiknya dengan menggunakan teknik Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD).*

*Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah pemberian dosis iradiasi sinar gamma sebesar 100 Gy, 200 Gy, dan 300 Gy tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada parameter viabilitas dan vigoritas dengan nilai  $p \geq 0.05$ . Induksi cekaman kekeringan konsentrasi PEG 30% memberikan pengaruh signifikan ( $p = 0.00$ ) pada parameter daya berkecambah hingga 0%. Sampel perlakuan iradiasi 200 Gy konsentrasi PEG 20% menunjukkan ketahanan dengan tinggi kecambah sebesar 2.75 cm dibandingkan dengan kontrol. Penggunaan primer OPA 02 diketahui paling efektif dalam menunjukkan polimorfisme DNA padi varietas Bahbutong sebanyak 9 fragmen DNA polimorfik.*

*Kata kunci: Cekaman Kekeringan, Iradiasi, Padi Varietas Bahbutong, dan RAPD.*

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

# **DEVELOPMENT OF RAPD TECHNIQUES IN GENETIC DIVERSITY DETECTION OF IRRADIATED DROUGHT-TOLERANT RICE (*ORYZA SATIVA* L.) VARIETY BAHBUTONG**

**Student Name** : Pinka Langlangdewi N.  
**Student Number** : 1513 100 079  
**Department** : Biology  
**Advisor** : Triono Bagus Saputro, S.Si.,  
M.Biotech.

## ***Abstract***

Rice is one of important food commodities in the world. In Asia, rice has unique pigments such as red, purple, black, brown, yellow and green that have been widely cultivated and consumed. Rice varieties Bahbutong as one of the original red rice varieties from North Sumatra which has been issued since 1985 but only suitable to be planted in the field only. There are currently no studies that report on its durability in dry conditions.

In this study, the rice varieties of Bahbutong in the induction of genetic diversity with gamma ray irradiation technique at dose 0 Gy, 100 Gy, 200 Gy and 300 Gy, after that the seeds germinate. Seeds are able to germinate will be subculture on a selection medium containing PEG 6000 with concentrations of 0%, 10%, 20% and 30%. Clones that showed endurance performance will be confirmed in genetic characteristics using *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) techniques.

The result of this research is obtained that gamma ray irradiation at dose 100 Gy, 200 Gy, and 300 Gy does not give a significant effect on viability and vigority parameters with  $p \geq 0.05$ . The induction of drought stress at concentration of PEG 30% gave significant effect ( $p = 0.00$ ) on germination up to 0%. Samples of irradiation treatment at dose 200 Gy and PEG concentration of 20% showed resistance with a sprout height of 2.75 cm compared with controls. The use of OPA primer 02 is most effective by showing polymorphism of Bahbutong rice DNA varieties of 9 polymorphic DNA fragments.

**Keywords:** Drought, irradiation, Bahbutong variety, RAPD.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, rasa syukur dipanjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tugas akhir dengan judul **“Pemanfaatan Teknik RAPD Dalam Deteksi Keragaman Genetik Padi (*Oryza Sativa* L.) Varietas Bahbutong Tahan Cekaman Kekeringan Hasil Iradiasi”**.

Dalam melakukan penelitian dan penyusunan laporan Tugas Akhir ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada Bapak Evan, Mama Enggay, Teteh Anggy, Abang Zarrach dan Kakak Ibni yang senantiasa memberikan dukungan dan doa dalam tiap prosesnya. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Triono Bagus Saputro, S.Si., M.Biotech yang telah memberikan ilmu serta bimbingan selama penelitian dan penyusunan laporan Tugas Akhir. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dr. Enny Zulaikha, M.P dan Ibu Wirdhatul Muslihatin, S.Si., M.Si. selaku penguji atas waktu dan saran. Tidak lupa pula penulis mengucapkan terimakasih kepada sahabat terbaik Irine Prabhandaru, Muhammad Ridho Azhari, Felita Widyaningsih, Risvia Pakan Taruk Allo, Rossy Angelina Latuharhary, Amirotul Faizah, Millisa, Andriyani, Faridl Furqon dan teman – teman *Amblonyx cinereus* yang selalu ada disaat senang maupun susah.

Bagaimanapun penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan Tugas Akhir ini. Untuk itu penulis terbuka menerima kritik dan saran dari pembaca untuk kesempurnaan Tugas Akhir ini. Besar harapan penulis bahwa Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Surabaya, 25 Juli 2017

Penulis

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## DAFTAR ISI

Judul Indonesia.....	ii
Judul Inggris.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	vi
<i>Abstrak</i> .....	v
<i>Abstract</i> .....	vii
Kata Pengantar .....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan.....	3
1.4. Batasan Masalah .....	3
1.5. Manfaat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Klasifikasi Tanaman Padi.....	5
2.2. Karakter Morfologi Tanaman Padi.....	7
2.3. Fase Pertumbuhan Tanaman Padi.....	9
2.4. Iradiasi Sinar Gamma .....	11
2.5. Cekaman Kekeringan .....	13
2.6. Studi Keragaman Genetik.....	17
2.6.1. <i>Random amplified polymorphic DNA (RAPD)</i> .....	19
BAB III METODOLOGI.....	21
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2. Metode Yang Digunakan.....	21

3.2.1. Sterilisasi peralatan.....	21
3.2.2. Sterilisasi bahan.....	21
3.2.3. Iradiasi sinar gamma .....	21
3.2.4. Uji vigoritas dan viabilitas .....	22
3.2.5. Seleksi cekaman kekeringan .....	25
3.2.6. Ekstraksi DNA .....	25
3.2.7. Pengamatan kualitas dan kuantitas DNA .....	26
3.2.8. Pembuatan gel agarosa .....	27
3.2.9. Analisis <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i> (RAPD).....	27
3.3. Rancangan Penelitian dan Analisis Data.....	29
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	 31
4.1. Pengujian vigoritas dan viabilitas benih.....	31
4.2. Seleksi cekaman kekeringan .....	39
4.3. Analisis polimorfisme RAPD.....	49
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	 57
5.1. Kesimpulan.....	57
5.2. Saran .....	57
 DAFTAR PUSTAKA.....	 59
LAMPIRAN .....	77
BIODATA PENULIS.....	91

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	PCR <i>mixture</i> untuk RAPD.....	28
Tabel 3.2.	Daftar primer dan urutan basa nitrogen yang digunakan untuk analisis RAPD.....	28
Tabel 4.1.	Hasil pengamatan daya berkecambah.....	32
Tabel 4.2.	Rerata perlakuan iradiasi sinar gamma terhadap parameter daya berkecambah.....	34
Tabel 4.3.	Rerata perlakuan iradiasi sinar gamma terhadap parameter laju perkecambahan.....	36
Tabel 4.4.	Rerata perlakuan iradiasi sinar gamma terhadap parameter keserempakan tumbuh benih.....	38
Tabel 4.5.	Rerata perlakuan konsentrasi PEG terhadap parameter persentase daya berkecambah.....	40
Tabel 4.6.	Rerata perlakuan konsentrasi PEG terhadap parameter tinggi kecambah.....	42
Tabel 4.7.	Hasil analisis RAPD padi varietas Bahbutong.....	53

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Tanaman padi.....	5
Gambar 2.2.	Perbandingan malai dari <i>O. glaberrima</i> (kanan) dan <i>O. sativa</i> (kiri) .....	7
Gambar 2.3.	Morfologi tanaman padi.....	7
Gambar 2.4.	Struktur beras.....	9
Gambar 2.5.	Perkecambahan tanaman padi.....	10
Gambar 2.6.	Malai tanaman padi.....	11
Gambar 2.7.	Analisis molekular RAPD .....	20
Gambar 3.1.	Tahapan proses PCR.....	29
Gambar 3.2.	Analisis produk PCR dengan skoring.....	30
Gambar 4.1.	Kecambah normal.....	32
Gambar 4.2.	Grafik pengaruh konsentrasi PEG pada tinggi kecambah padi varietas Bahbutong yang telah di iradiasi sinar gamma.....	43
Gambar 4.3.	Tinggi kecambah tiap perlakuan.....	45
Gambar 4.4.	Visualisasi pita DNA yang teramplifikasi pada padi varietas Bahbutong dengan primer OPA 02.....	48
Gambar 4.5.	Visualisasi pita DNA yang teramplifikasi pada padi varietas Bahbutong dengan primer OPA 10.....	49
Gambar 4.6.	Visualisasi pita DNA yang teramplifikasi pada padi varietas Bahbutong dengan primer OPD 08.....	49

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Pengujian vigoritas dan viabilitas padi ( <i>Oryza sativa</i> L.) varietas Bahbutong.....	77
Lampiran 2.	Hasil analisis statistika daya berkecambah padi ( <i>Oryza sativa</i> L.) varietas Bahbutong menggunakan <i>software</i> SPSS.....	78
Lampiran 3.	Hasil analisis statistika laju perkecambahan padi ( <i>Oryza sativa</i> L.) varietas Bahbutong menggunakan <i>software</i> SPSS.....	79
Lampiran 4.	Hasil analisis statistika keserempakan tumbuh padi ( <i>Oryza sativa</i> L.) varietas Bahbutong menggunakan <i>software</i> SPSS.....	80
Lampiran 5.	Pembuatan larutan PEG.....	81
Lampiran 6.	Hasil analisis statistika persentase daya berkecambah padi ( <i>Oryza sativa</i> L.) varietas Bahbutong setelah dicekam menggunakan <i>software</i> SPSS.....	82
Lampiran 7.	Hasil analisis statistika tinggi kecambah padi ( <i>Oryza sativa</i> L.) varietas Bahbutong setelah dicekam menggunakan <i>software</i> SPSS.....	83
Lampiran 8.	Tahapan proses ekstraksi DNA.....	84
Lampiran 9.	Pengujian kualitas dan kuantitas DNA.....	86
Lampiran 10.	Data hasil uji kualitas DNA.....	88
Lampiran 11.	Tahapan proses analisis polimorfisme RAPD.....	89

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar Belakang**

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu komoditas penting yang berperan sebagai sumber pangan utama. Menurut Hidayatulloh *et al.*, 2012, beras merupakan makanan pokok bagi sebagian penduduk Indonesia. Di Asia, terdapat beragam varietas padi yang memiliki pigmen unik seperti merah, ungu, hitam, coklat, kuning dan hijau yang telah banyak dibudidaya dan dikonsumsi (Saxena, 2014).

Beras merah merupakan bahan pangan pokok yang bernilai kesehatan tinggi karena mengandung karbohidrat, lemak, protein, serat, mineral, dan antosianin (Sulartini, *et al.*, 2011). Antosianin adalah senyawa fenolik yang masuk kelompok flavonoid dan berfungsi sebagai antioksidan yang berperan penting bagi tanaman itu sendiri maupun bagi kesehatan manusia. Menurut Sulartini, *et al.*, (2011), antosianin berperan bagi manusia untuk mencegah penyakit hati (hepatitis), kanker usus, stroke, diabetes, dan sangat esensial bagi fungsi otak serta mengurangi pengaruh penuaan otak. Beras merah juga memiliki nilai ekonomis yang tinggi dibandingkan dengan beras putih dan beras ketan (Naluri, *et al.*, 2012). Beras merah memiliki daya tahan terhadap hama yang lebih tinggi sehingga memiliki prospek yang lebih baik daripada beras lain (Hasan, 2009). Salah satu varietas unggul padi beras merah adalah varietas Bahbutong yang dilepas tahun 1985 namun varietas ini tidak meluas perkembangannya (Sulartini, *et al.*, 2011).

Padi varietas Bahbutong memiliki karakteristik tahan terhadap wereng coklat biotipe 1, 2, 3, umur tanaman 115 – 125 hari, rasa nasi enak dan potensi hasil berkisar antara 4,0 – 5,0 t/ha (Romdon, *et al.*, 2014). Padi varietas bahbutong sendiri merupakan salah satu padi yang berasal dari daerah Sumatera Utara dan varietas beras merah yang telah dilepas oleh Badan

Litbang Pertanian (BB Padi). Salah satu faktor pembatas dalam produksi padi adalah perubahan iklim.

Perubahan iklim dunia atau *climate change* memberikan dampak negatif pada produksi tanaman pertanian khususnya padi (Cramer, *et al.*, 2011). Salah satu yang sering dihadapi adalah terjadinya peningkatan suhu dunia yang mengarah pada kekeringan sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas tanaman tersebut (Szilgyi, 2003; Hirt dan Shinozaki, 2003). Lahan kering menyebabkan tanaman, khususnya padi tidak cukup mendapatkan air dan unsur hara sehingga menyebabkan keadaan tercekam (Winata, *et al.*, 2014). Belum terdapat penelitian lebih lanjut mengenai ketahanan varietas Bahbutong akan cekaman kekeringan sehingga perlu dilakukan peningkatan ketahanan pada kondisi cekaman kekeringan. Keragaman genetik salah satu cara untuk dapat memunculkan sifat tahan kekeringan dapat dilakukan dengan induksi mutasi. Salah satu metode yang banyak digunakan adalah dengan kombinasi induksi keragaman dan seleksi.

Induksi yang sering digunakan dan dapat memunculkan perubahan sifat morfologi, anatomi serta genetik salah satunya adalah induksi iradiasi sinar gamma (Giono, *et al.*, 2014). Keragaman genetik yang muncul dari hasil induksi iradiasi sinar gamma dapat memunculkan sifat – sifat baru yang mampu mempertahankan diri dari serangan penyakit dan perubahan iklim ekstrim. Benih hasil iradiasi perlu diseleksi pada media PEG 6000 untuk mendapatkan klon tahan kekeringan. Berdasarkan penelitian Nurmalasari, *et al.*, (2015) perlakuan cekaman kekeringan dengan media PEG menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan tinggi tanaman, luas daun, panjang akar, dan berat akar pada tanaman padi hitam dan padi merah. Seleksi dilakukan secara semi *in vivo* dengan tujuan klon akan dapat beradaptasi sesuai dengan kondisi di lapangan. Melalui seleksi ini, klon padi akan lebih tahan terhadap kondisi mikroorganisme, suhu dan kelembaban di lapangan. Klon yang menunjukkan ketahanan pada media seleksi PEG dikonfirmasi perbedaan karakter

genetiknya dengan penanda molekular DNA yaitu RAPD. Penanda molekular RAPD telah banyak digunakan dalam penelitian untuk mengetahui keragaman genetik. Salah satunya telah digunakan oleh Sulistianingsih, *et al.*, (2012) untuk mengetahui variasi genetik anggrek alam hasil iradiasi sinar gamma. Oleh karena itu, hal tersebut mendasari peneliti untuk melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik tanaman padi tahan kekeringan hasil iradiasi.

## **1.2. Rumusan Permasalahan**

Adapula permasalahan pada penelitian ini adalah sebagai berikut,

1. Bagaimana pengaruh iradiasi terhadap vigoritas dan viabilitas padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong?
2. Apakah iradiasi sinar gamma mempengaruhi ketahanan tanaman padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong terhadap cekaman kekeringan?
3. Bagaimana keragaman genetik tanaman padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong hasil seleksi dibandingkan dengan kontrolnya?

## **1.3. Tujuan**

Tujuan yang akan dicapai dari penelitian ini adalah sebagai berikut,

1. Untuk mendapatkan informasi mengenai pengaruh iradiasi sinar gamma pada benih padi varietas Bahbutong
2. Untuk melakukan analisis tingkat ketahanan padi varietas Bahbutong hasil iradiasi sinar gamma pada cekaman kekeringan.
3. Untuk menganalisis keragaman genetik padi varietas Bahbutong.

#### **1.4. Batasan Masalah**

Batasan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Sampel yang digunakan adalah padi varietas Bahbutong yang diperoleh dari Balai Besar Padi Sukamandi, Subang, Jawa Barat.
2. Dosis iradiasi sinar gamma yang digunakan adalah dosis 0 Gy, 100 Gy, 200 Gy dan 300 Gy yang dilakukan di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), Badan Tenaga Nuklir Nasional, Pasar Jumat, Jakarta.
3. Induksi cekaman kekeringan dilakukan dengan menggunakan senyawa *polyethylene glycol* (PEG) dengan berat molekul 6000 dengan konsentrasi 0% 10%, 20% dan 30%.
4. Parameter yang diukur pada kecambah padi yang tumbuh dalam media PEG 6000 adalah daya berkecambah dan tinggi kecambah.
5. Keragaman genetik dilakukan dengan penanda molekuler DNA menggunakan teknik *random amplified polymorphic DNA* (RAPD).
6. Primer yang digunakan sebagai penanda molekuler adalah primer OPA 02, OPA 10, dan OPD 08.

#### **1.5. Manfaat**

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai keragaman genetik padi varietas Bahbutong tahan cekaman kekeringan hasil iradiasi.
2. Hasil penelitian dapat dijadikan pertimbangan dalam pengembangan padi varietas Bahbutong tahan cekaman kekeringan hasil iradiasi.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Klasifikasi Tanaman Padi

Padi berasal dari genus *Oryza* dalam familia Graminae (Poaceae) yang ditunjukkan dalam Gambar 2.1. Genus *Oryza* memiliki 25 spesies yang diketahui dimana 23 diantaranya spesies liar dan hanya dua spesies yang sering dibudidayakan padi yaitu *Oryza sativa* dan *Oryza glaberrima* (Tripathi, *et al.*, 2011). *Oryza sativa* sering dibudidayakan di dunia termasuk di Asia, Amerika Utara dan Selatan, Eropa, Timur Tengah dan Negara di Afrika. Namun *Oryza glaberrima* masih dibudidayakan di Negara Afrika Barat (Tripathi, *et al.*, 2011).

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Poales
Familia	: Graminae atau Poaceae
Genus	: <i>Oryza</i>
Spesies	: <i>Oryza sativa</i> L.

(Tripathi, *et al.*, 2011)



**Gambar 2.1.** Tanaman Padi

Terdapat dua tipe atau subspecies dari *O. sativa* yang berasal dari Asia yaitu *Indica* dan *Japonica*. Menurut Wopereis, 2009, tipe *Indica* berasal dari Negara Asia yang beriklim tropis, umumnya memiliki karakter daun yang panjang, lebar hingga sempit dan berwarna hijau muda, memiliki anakan yang berlimpah, umumnya butiran padi yang dihasilkan panjang dan tipis dan terdapat beberapa cabang sekunder. Padi tipe *indica* memiliki toleransi yang baik terhadap kondisi banjir, panas dan intensitas cahaya yang tinggi namun memiliki kualitas makanan yang buruk karena mengandung amilosa yang tinggi (Yu, *et al.*, 2013). Sedangkan pada tipe *Japonica* berasal dari Negara Asia yang beriklim sedang dan subtropis. Karakter padi tipe *Japonica* menurut Wopereis (2009) antara lain memiliki daun yang tipis dan berwarna hijau muda, memiliki anakan medium, berukuran pendek hingga sedang dan butiran padi yang dihasilkan kecil dan bulat. Padi tipe *Japonica* memiliki toleransi pada kondisi dingin dan intensitas cahaya yang rendah, *Japonica* memiliki kualitas makanan yang sempurna dengan kandungan amilosa yang rendah (Yu, *et al.*, 2013).

Pada padi *Oryza glabberima* berasal dari delta Sungai Niger ditemukan oleh postular dari Afrika yang bernama Porteres (Agnoun, *et al.*, 2012). Menurut Wopereis (2009) karakter yang membedakan *O. glaberrima* dengan *O. sativa* adalah *O. glaberrima* memiliki daun yang gundul dan permukaannya halus dan tidak atau sedikit cabang sekunder, memiliki kulit benih berwarna merah dan masa dormansi yang lama. Pada masa modern ini, spesies padi Asia (*O. sativa*) lebih banyak dibudidaya dan dikembangkan daripada spesies padi Afrika (*O. glaberrima*) (lihat Gambar 2.2) dikarenakan produktivitas yang lebih tinggi (Wopereis, 2009). Padi Afrika memiliki toleransi yang baik pada salinitas, kekeringan dan kebanjiran (Agnoun, *et al.*, 2012).

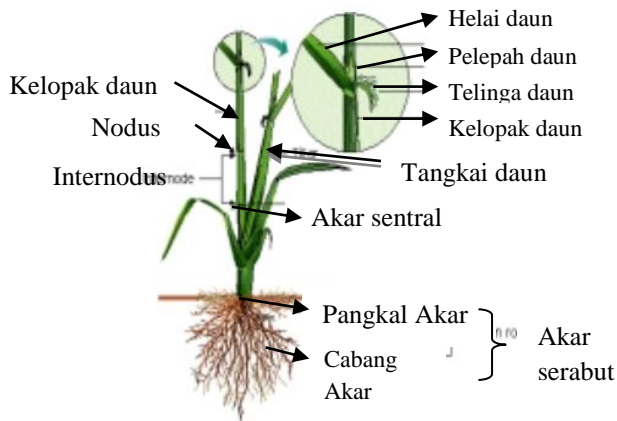




**Gambar 2.2.** Perbandingan Malai dari *O. glaberrima* (kanan) dan *O. sativa* (kiri).

## 2.2. Karakter Morfologi Tanaman Padi

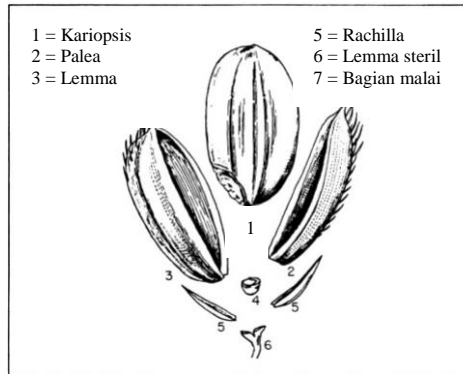
Morfologi tanaman padi merupakan bagian – bagian yang menyangkut bentuk dan struktur luar organ tanaman (Gambar 2.3). Menurut Makarim (2009), struktur luar tanaman padi di kelompokkan menjadi dua bagian yaitu bagian vegetatif dan bagian generatif. Struktur vegetatif terdiri atas akar, batang dan daun sedangkan struktur generatif padi adalah bunga dan buah yang disebut dengan gabah.



**Gambar 2.3.** Morfologi Tanaman Padi

Akar merupakan komponen vegetatif padi yang berperan untuk menyerap zat makanan dan air dari dalam tanah, menopang tegaknya batang, dan untuk bernapas (Simanjuntak, 2010). Akar tanaman padi digolongkan akar serabut. Akar tanaman padi tidak memiliki pertumbuhan sekunder sehingga diameter akar tidak akan banyak berubah sejak tumbuh (Makarim, 2009). Komponen vegetatif lain pada tanaman padi adalah batang. Batang padi memiliki fungsi utama yaitu untuk menopang tanaman secara keseluruhan dan mendistribusikan zat makanan ke seluruh bagian tanaman (Simanjuntak, 2010). Menurut Makarim (2009), batang tanaman padi terdiri atas beberapa ruas yang di batasi oleh buku. Daun dan tunas (anakan) tumbuh pada buku. Komponen vegetatif dari tanaman padi yang terakhir adalah daun. Daun padi tumbuh pada ruas batang dengan susunan berselang – selang. Ada pun bagian – bagian dari daun padi terdiri atas pelepah daun, helai daun, telinga, dan lidah daun (Simanjuntak, 2010).

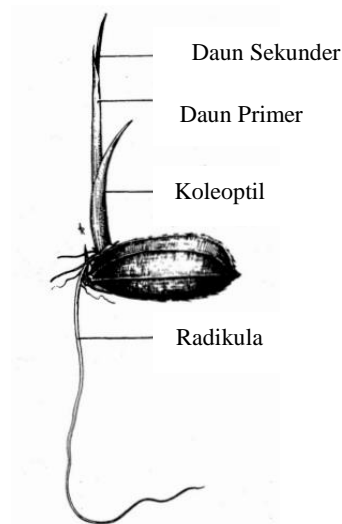
Komponen generatif tanaman padi ada malai atau butir gabah terletak mulai dari ruas batang paling ujung hingga ruas batang paling akhir. Biasanya terdiri atas 8 – 10 ruas batang (Simanjuntak, 2010). Selanjutnya bunga, bunga padi tergolong jenis bunga berkelamin dua. Setiap bunga mempunyai enam benang sari yang bertangkai pendek dengan dua tangkai putik dan dua kepala putik (Simanjuntak, 2010). Dan komponen generatif terakhir dari padi adalah buah. Buah berasal dari hasil penyerbukan saat serbuk sari menempel dikepala putik. Buah padi terdiri atas bagian luar yang disebut dengan sekam dan bagian dalam yang disebut dengan kariopsis (Simanjuntak, 2010). Kariopsis inilah yang disebut dengan beras yang ditunjukkan dalam Gambar 2.4.



**Gambar 2.4. Struktur Beras**

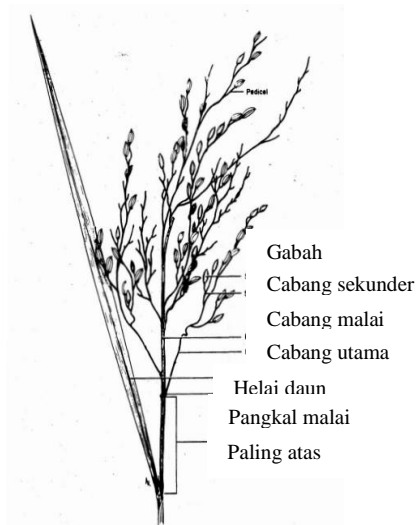
### **2.3. Fase Pertumbuhan Tanaman Padi**

Padi memiliki tahap pertumbuhan dan perkembangan yang dibagi atas tiga fase yaitu fase vegetatif yang terlibat mulai dari perkecambahan hingga inisiasi malai, lalu fase reproduktif yang dimulai dari inisiasi malai hingga pembungaan, dan terakhir yaitu fase pematangan yang dimulai dari pembungaan hingga dewasa. Menurut Tripathi, *et al.*, (2011), menyatakan bahwa fase pertumbuhan vegetatif dimulai saat awal perkecambahan dengan perendaman benih selama 24 jam dan di inkubasi selama 24 jam. Saat perendaman inilah terjadi imbibisi atau masuknya air ke dalam biji untuk mengaktifkan enzim di dalam biji untuk memecah cadangan makanan. Perkecambahan dapat terjadi dalam keadaan aerobik atau anaerobik. Saat kondisi aerobik, koleoptil pecah dahulu karena hanya bagian embrio yang dapat tumbuh di dalam kondisi fermentasi (Moldenhauer & Gibbons, 2003). Koleoptil memanjang bersamaan dengan epikotil dan ketika koleoptil menyentuh tanah atau permukaan air, koleoptil terbuka dan muncul daun pertama (lihat Gambar 2.5) McDonald, 1979).



**Gambar 2.5.** Perkecambahan Tanaman Padi

Fase reproduktif tanaman padi dimulai dengan inisiasi pertumbuhan malai. Saat pertumbuhan malai berkaitan secara langsung dengan fotoperiodik tertentu (McDonald, 1979). Inisiasi malai tumbuh dari munculnya tunas dari ujung tangkai. Malai tumbuh di dalam pelepah daun (lihat Gambar 2.6). Malai muncul beberapa bagian tertentu atau langsung muncul secara utuh. Pembungaan terjadi satu hari setelah munculnya malai kurang lebih 7 hari hingga seluruh malai mengalami pembukaan. Menurut Moldenhauer & Gibbons, 2003), umumnya anter mulai terbuka berurutan dengan pemanjangan stamen yang berlangsung selama 1.2 hingga 2.5 jam antara 9 pagi hingga 2 siang. Namun ini terjadi pada suhu konstan dan akan berlangsung lebih lama apabila terjadi dalam kondisi cuaca yang lebih dingin atau lebih berawan (Moldenhauer & Gibbons, 2003).



**Gambar 2.6. Malai Tanaman Padi**

Ketika bunga mengalami fertilisasi atau penyerbukan ketika ovarium mulai mengami perkembangan membentuk gabah. Malai tetap dalam keadaan hijau pada fase ini dan mulai merunduk. Gabah mulai mengeras, daun mulai mengalami perubahan warna dari hijau menjadi kuning. Saat fase pemasakan terakhir yaitu saat gabah mengalami pematangan, gabah menjadi kering dan keras. Selanjutnya seluruh tanaman menjadi kuning dan kering, pada saat fase ini tanaman padi siap untuk dipanen (Australian Government, 2005).

#### **2.4. Iradiasi Sinar Gamma**

Induksi mutasi merupakan salah satu langkah yang dapat diterapkan untuk meningkatkan keragaman tanaman. Induksi mutasi dapat dilakukan dengan perlakuan bahan mutagen terhadap materi reproduktif yang akan dimutasi. Menurut Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (2011), terdapat dua jenis bahan mutagen yaitu mutagen kimia dan mutagen fisika. Mutagen kimia

pada umumnya berasal dari senyawa kimia yang memiliki gugus alkil seperti etil metan sulfonat (EMS), dietil sulfat (DES), metil metan sulfonat (MMS), hidroksil amina dan *nitrous acid*. Sedangkan yang termasuk mutagen fisika adalah radiasi energi nuklir seperti iradiasi sinar gamma. Teknologi nuklir memiliki kemampuan untuk menginduksi mutasi pada materi genetik. Kemampuan ini dimungkinkan karena nuklir memiliki energi yang cukup tinggi untuk menimbulkan perubahan pada struktur atau komposisi materi genetik tanaman. Perubahan yang ditimbulkan terjadi secara mendadak, acak, dan diwariskan pada generasi berikutnya.

Mutagenesis telah digunakan untuk meningkatkan banyak sifat yang dapat mempengaruhi ukuran tanaman, waktu perbungaan, pematangan buah, warna buah, ketahanan tubuh, ketebalan tubuh tumbuhan dan resisten terhadap patogen (Piri, *et al.*, 2011). Pada masa sekarang, jumlah kultivar hasil dari induksi mutasi meningkat secara konstan (Hearn, 2001; Malusznski, *et al.*, 1995). Teknik mutasi telah diterapkan untuk memproduksi beragam variasi genetik dan telah berperan secara signifikan dalam persilangan tanaman dan penelitian genetik di seluruh dunia (Hamideldin & Eliwa, 2015). Pada banyak varietas mutan diperkirakan hampir sebesar 89% telah dikembangkan di seluruh dunia dengan menggunakan mutagen fisik yaitu sinar-X, sinar gamma, neutron panas dan cepat), diperkirakan 60% varietas mutan dikembangkan dengan sinar gamma (Kharkwal, *et al.*, 2004).

Teknik iradiasi dengan menggunakan sinar gamma telah digunakan sejak tahun 1960, dimana pada saat itu iradiasi sinar gamma digunakan untuk sterilisasi dokumen tanpa mengurangi daya tarik kertas atau mengubah warna kertas (Sakr, *et al.*, 2013). Pada masa kini, teknik iradiasi sinar gamma telah banyak digunakan dan disetujui oleh *International Organizations of Food* (FAO – *Food and Agricultural Organization*) dan kesehatan (WHO – *World Health Organization*), yang diatur di Eropa oleh Instruksi 1999/EC (Antonio, *et al.*, 2013). Iradiasi gamma telah

diteliti sebagai teknologi pengawetan dan disetujui untuk beberapa produk makanan (Antonio, *et al.*, 2013). Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa dosis yang relatif rendah pada ionisasi radiasi di tumbuhan dan mikroorganisme meningkatkan proliferasi sel, tingkat perkecambahan, pertumbuhan sel, aktivitas enzim, ketahanan terhadap cekaman dan hasil panen (Desai & Rao, 2014).

Pemuliaan tanaman dengan induksi iradiasi sinar gamma terhadap benih dapat menyebabkan perubahan sifat morfologi, anatomi serta genetika (Giono, *et al.*, 2014). Peluang dapat terjadinya terjadi mutasi dan persentasenya tergantung pada jumlah tanaman, umur tanaman, bagian tanaman, fase pertumbuhan dan lamanya penyinaran (Giono, *et al.*, 2014). Dosis iradiasi menurut Giono, *et al.*, 2014 dibagi menjadi tiga yaitu tinggi ( $> 10$  k Gy), sedang ( $1 - 10$  k Gy), dan rendah ( $< 1$  k Gy). Perlakuan dosis tinggi akan mematikan bahan yang dimutasi atau mengakibatkan sterilitas. Pada umumnya dosis yang rendah dapat mempertahankan daya hidup atau tunas, dapat memperpanjang waktu pemasakan buah dan sayur, serta meningkatkan kadar protein, pati dan kadar minyak pada jagung, kacang dan bunga matahari (Giono, *et al.*, 2014). Menurut Soedjono, 2003 menyatakan bahwa tanaman mutan memiliki daya toleran yang lebih baik terhadap serangan patogen dan kekeringan.

## **2.5. Cekaman Kekeringan**

Cekaman abiotik seperti kekeringan, salinitas, suhu ekstrim, peningkatan senyawa kimia dan ketidakstabilan kadar karbondioksida merupakan salah satu masalah yang sering dihadapi di dunia pertanian (Toosi, *et al.*, 2014). Hal ini terjadi berkaitan dengan perubahan iklim yang terjadi di dunia. Penelitian menunjukkan bahwa perubahan iklim atau sering dikenal dengan "*climate change*" memberikan dampak negatif pada produksi tanaman pertanian. Cramer, *et al.*, 2011, menyatakan bahwa hampir 90% dari lahan pedesaan di dunia dipengaruhi oleh faktor cekaman abiotik yang mempengaruhi

masa tumbuh tumbuhan secara langsung. Pada umumnya tanaman dapat mengatasi cekaman abiotik dengan mengandalkan homeostasis dari metabolismenya dengan mengeluarkan metabolit yang dapat menekan keadaan tercekam tersebut. Namun beberapa tumbuhan yang peka dan tidak dapat menghasilkan metabolit tersebut, cekaman dapat menghambat pertumbuhan tanaman dan pada akhirnya akan mengarah pada kematian (Jogaiah, *et al.*, 2013).

Kekeringan adalah salah satu masalah dunia dan hampir seluruh lahan pertanian dipengaruhi oleh beragam tingkat kekeringan (Hamayun, *et al.*, 2010). Kekurangan air, suhu ekstrim dan penurunan tingkat kelembapan akan mengarah pada kekeringan, dan hal ini merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas (Szilgyi, 2003; Hirt & Shinozaki, 2003). Kekeringan dapat tidak hanya mempengaruhi kecepatan tumbuh perkecambahan namun juga mempengaruhi perkembangan biji (Toosi, *et al.*, 2014). Pertumbuhan daun terhambat merupakan salah satu respon dari cekaman kekeringan yang telah diteliti pada benih jagung, barley dan beras (Jain, *et al.*, 2013).

Cekaman kekeringan mempengaruhi semua aspek pertumbuhan dan metabolisme tumbuhan termasuk integritas membran, kandungan pigmen, keseimbangan osmotik, aktivitas fotosintesis, penurunan potensial air protoplasma, penurunan pertumbuhan, dan penurunan diameter batang (Sinay, 2015). Kekeringan merupakan istilah untuk menyatakan bahwa tumbuhan mengalami kekurangan air akibat keterbatasan air dari lingkungan yaitu media tanam (Levitt, 1980; Bray, 1997). Menurut Mathius *et al.*, (2004), kekeringan disebabkan karena kekurangan suplai air di daerah sistem perakaran dan permintaan air yang berlebihan oleh daun karena laju evotranspirasi lebih tinggi dibandingkan dengan laju absorpsi air oleh akar, meskipun keadaan air tanah tersedia cukup. Jika kebutuhan air tersebut tidak dapat dipenuhi, pertumbuhan tumbuhan akan terhambat



karena air berfungsi melarutkan unsur hara dan membantu proses metabolisme (Sinay, 2015).

Cara adaptasi tumbuhan terhadap kekeringan bervariasi tergantung pada jenis dan tahap – tahap perkembangan tumbuhan. Menurut Arve, *et al.*, (2011), respon adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan dapat berupa respon jangka panjang, seperti perubahan pertumbuhan dan perubahan biokimiawi. Perubahan pertumbuhan meliputi penurunan pertumbuhan batang dan daun, sedangkan perubahan biokimia dapat berupa akumulasi senyawa organik *compatible* yang berfungsi menjaga keseimbangan osmolit dalam tubuh tumbuhan. Salah satu senyawa organik kompatibel yang sering diakumulasi oleh tumbuhan ketika berada pada kondisi kekeringan yaitu prolin (Farooq, *et al.*, 2009). Akumulasi prolin terhadap cekaman kekeringan telah dilaporkan oleh banyak peneliti misalnya pada kelapa sawit (Mathius, *et al.*, 2004), kedelai (Mapegau, 2006), dan kacang tanah (Riduan, *et al.*, 2005). Pada jagung, Hirricks, *et al.*, (2012) menyatakan bahwa kekeringan akan menyebabkan penurunan pertumbuhan akar, penurunan panjang daun, indeks luas daun dan keterlambatan memasuki fase reproduksi, serta penurunan hasil.

Respon adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan dapat pula berupa respon jangka pendek seperti adanya aktivitas penutupan stomata (Osakabe, *et al.*, 2014). Untuk merespon cekaman kekeringan, ion dan sistem transport air melewati membran sel untuk mengontrol tekanan turgor yang berada di sel penjaga dan menstimulasi stomata untuk menutup. Hormon endogenus asam absisat (ABA) diproduksi secara masal ketika kekeringan, memicu hadirnya respon fisiologis salah satunya penutupan stomata yang diatur oleh jaringan transduksi sinyal. Pada *Arabidopsis*, enzim 9-cisepoxycarotenoid dioksigenase 3 (NCED 3) dikatalis untuk biosintesis ABA dan ekspresi NCED 3 diinduksi dengan cepat ketika cekaman kekeringan terjadi secara spesifik di jaringan vaskular tumbuhan. Selama berlangsungnya cekaman kekeringan, ABA yang terakumulasi pada jaringan vaskular tumbuhan di transportasikan pada sel penjaga melalui

proses difusi pasif dengan respon perubahan pH oleh transporter yang spesifik. Transporter ABCG25 berperan dalam pengeluaran ABA, dimana ABCG40 dan ALT1 berperan dalam memasukkan ABA. Dalam respon cekaman kekeringan, ABA menstimulasi jalur persinyalan yang menginduksi *reactive oxygen spesies* (ROS), yang dapat meningkatkan induksi sitosolik  $\text{Ca}^{2+}$ .

Untuk induksi cekaman kekeringan, salah satu pendekatan yang paling populer dengan mengandalkan substansi berat molekul yang tinggi seperti PEG (Jain, *et al.*, 2013). PEG atau *poly ethylene glycol* merupakan polimer dari etilen oksida dan air dan diketahui memiliki ikatan kimia yang stabil dibanding induksi cekaman kekeringan yang lain (Basha, *et al.*, 2015). PEG menginduksi terjadinya tekanan osmotik yang dapat menurunkan potensial air di dalam sel (Govindaraj, *et al.*, 2010). Namun diketahui bahwa PEG tidak masuk ke dalam dinding sel (Jain, *et al.*, 2013) karena PEG mampu menahan air sehingga air menjadi tidak tersedia bagi tanaman (Halimursyadah, *et al.*, 2013). PEG ini larut dalam air, tidak toksik dan tidak mudah diserap oleh tanaman (Halimursyadah, *et al.*, 2013).

PEG umumnya memiliki bobot berat molekul antara 200 - 300000. Penamaan PEG umumnya ditentukan dengan bilangan yang menunjukkan bobot molekul rata - rata. PEG dengan bobot molekul 200 – 600 (PEG 200 - 600) berbentuk cair, PEG 1500 semi padat, dan PEG 3000 - 20000 atau lebih berupa padatan semi kristalin, dan PEG dengan bobot molekul lebih besar dari 100000 berbentuk seperti resin pada suhu kamar. Umumnya PEG dengan bobot molekul 1500 - 20000 yang digunakan untuk pembuatan dispersi padat (Leuner & Dressman, 2000; Weller, 2003). Kebanyakan PEG yang digunakan memiliki bobot molekul antara 4000 dan 20000, khususnya PEG 4000 dan 6000. Proses pembuatan dispersi padat dengan PEG 6000, umumnya menggunakan metode peleburan, karena lebih mudah dan murah (Leuner & Dressman, 2000).

## 2.6. Studi Keragaman Genetik

Keragaman genetik merupakan salah satu faktor penting dalam mempertahankan keberadaan suatu spesies (Sulistiyawati, *et al.*, 2014). Suatu populasi dengan keragaman genetik tinggi, mempunyai kemampuan untuk mempertahankan diri dari serangan penyakit dan perubahan iklim ekstrim, sehingga mampu hidup dalam kondisi lestari pada beberapa generasi. Pemeliharaan keragaman genetik dipandang perlu untuk keberadaan/*survival* suatu spesies dalam jangka panjang karena keragaman genetik menyediakan potensi berevolusinya tumbuhan tersebut (Poerba, 2007). Lebih jauh lagi menurut Poerba, 2007 mengatakan bahwa menurunnya keragaman genetik dengan kehilangan alel – alel tertentu menurunkan kemampuan populasi tumbuhan untuk meresponi perubahan lingkungan biotik (misalnya patogen) dan abiotik.

Penilaian keragaman genetik tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan penanda morfologi, biokimia dan molekuler DNA. Menurut Zulfahmi (2013), penilaian keragaman genetik tanaman secara morfologi dapat dilakukan melalui uji progeni, uji provenan, dan pengujian lainnya dengan mengamati penampilan fenotipik tanaman. Pengujian ini dilakukan pada lingkungan yang berbeda dengan fokus utama adalah ciri kualitatif dan kuantitatif yang bernilai ekonomi serta ciri yang secara biologi penting seperti kemampuan hidup (*survive*), sifat toleran terhadap stres lingkungan, sifat produksi dan resistensi terhadap hama dan penyakit. Sebagian diantara ciri – ciri tersebut bersifat poligenik dan ekspresinya dipengaruhi oleh lingkungan.

Studi keragaman genetik dengan metode genetika kualitatif yaitu dengan cara penilaian keragaman dan distribusi keragaman yang dikelompokkan ke dalam beberapa kelas pengaruh, seperti pengaruh fenotipik, genotipik, lingkungan dan interaksi antara lingkungan dan genotip (Zulfahmi, 2013). Penentuan keragaman genetik tanaman secara kualitatif ini membutuhkan waktu yang lama, relatif mahal, dipengaruhi oleh lingkungan dan keragaman yang diperoleh terbatas dan tidak konsisten (Zulfahmi, 2013).

Terbatasnya penanda morfologi ini mendorong perkembangan penanda lain yang dapat langsung menunjukkan ke bagian inti yang dapat mengendalikan karakter atau ciri suatu individu, yang dikenal dengan penanda molekuler DNA. Penanda molekuler didefinisikan sebagai segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom (Zulfahmi, 2013). Pengujian menggunakan penanda DNA memiliki keuntungan dibandingkan dengan penanda lainnya, yaitu tidak dipengaruhi lingkungan, tidak dipengaruhi musim, tidak dipengaruhi perkembangan dan umur tanaman (Rosmaina, *et al.*, 2013). Keragaman genetik yang dihasilkan dari analisis DNA juga berguna dalam penentuan hubungan kekerabatan antar individu atau populasi yang diteliti (Siregar & Olivia, 2012).

Menurut Mondini, *et al.*, 2009; Agarwal, *et al.*, 2008; dan Weising, *et al.*, 2005 menyatakan ada beberapa karakter penanda molekuler DNA yang ideal yaitu sebagai berikut: a) memiliki tingkat polimorfisme yang sedang sampai tinggi, b) terdistribusi merata diseluruh genom, c) memberikan resolusi perbedaan genetic yang cukup, d) pewarisan bersifat kodominan (dapat membedakan kondisi homozigot dan heterozigot dalam organisme diploid), e) berperilaku netral, f) secara teknik sederhana, cepat dan murah, g) butuh sedikit jaringan dan DNA sampel, h) berkaitan erat dengan fenotip, i) tidak memerlukan informasi tentang genom organisme, j) data mudah dipertukarkan antar laboratorium. Tidak ada satu jenis penanda yang dapat memenuhi karakter tersebut, namun kita dapat memiliki diantara berbagai penanda yang ada dan dapat saling dikombinasikan untuk mencapai semua kriteria tersebut.

Menurut Zulfahmi (2013), penanda molekuler DNA dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu penanda DNA tanpa PCR seperti RLFP dan penanda DNA dengan PCR seperti RAPD, AFLP, SSR, CAPS, SCAR, SSCP, dan DNA Berkoding.

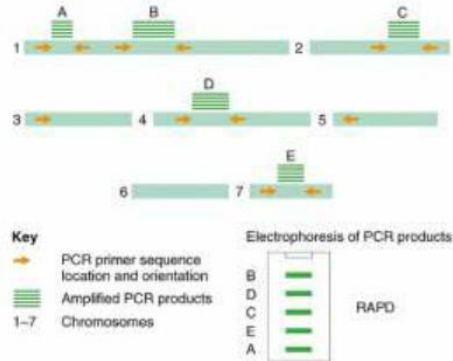
### **2.6.1. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)**

Perkiraan dari variasi genetik meningkat sejalan dengan meningkatnya berbagai teknik molekular ditingkat informasi DNA seperti *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD), *amplified fragment length polymorphism* (AFLP), RFLP, SSR, dan mikrosatelit. Diantara semua teknik molekular tersebut, RAPD, penanda molekular dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) sudah digunakan sejak tahun 1990 untuk mengetahui variasi intra spesifik genetik ditingkat nukleus (Welsh & McClellan, 1990).

Prinsip kerja dari teknologi RAPD dengan menggunakan rantai oligonukleotida pendek (10 basa nitrogen) sekuens acak sebagai primer untuk mengamplifikasi jumlah genom DNA dibawah suhu annealing rendah dengan PCR (Kumari & Thakur, 2014). Produk amplifikasi umumnya dipisahkan dari gel agarose dan diwarnai dengan pewarna etidium bromida. Tahap – tahap penting dari RAPD secara garis besar yaitu ekstraksi dari DNA, pengecekan ulang dari ekstraksi DNA secara kualitas dan kuantitas, pemilihan primer, amplifikasi dengan PCR, elektroforesis dengan gel agarosa, dan analisis statistik.

Menurut Kumari & Thakur (2014) ada berbagai keuntungan yang diperoleh dari penggunaan teknologi RAPD, antara lain (i) cocok digunakan untuk pengerjaan genom yang tidak diketahui, (ii) dapat digunakan pada jumlah DNA yang terbatas, (iii) efisien dan murah. Selain itu, RAPD memiliki keuntungan dengan harga yang relatif murah akan memperbanyak fragmen DNA dan menunjukkan polimorfisme. Hasil polimorfisme dari RAPD dapat digunakan dan diperbanyak untuk analisis lainnya. Sedangkan kerugian dari penggunaan RAPD yaitu marker RAPD dominan. Amplifikasi yang terjadi baik di lokus atau tidak, hasil tetap bergantung pada terbentuknya *band* atau tidak. Sehingga dapat dikatakan bahwa tidak dapat dibedakan antara homozigot atau heterozigot. Tidak munculnya *band* bergantung pada kurangnya sekuens target karena kurangnya amplifikasi (missal karena kualitas DNA yang buruk), yang akan berpengaruh pada

ambiguitas interpretasi hasil. Masalah pada reproduibel produk yang dihasilkan dipengaruhi oleh perubahan sensitivitas pada kualitas DNA, komponen PCR dan kondisi PCR, sehingga akan menyebabkan perubahan pada fragmen yang telah diamplifikasi. Berikut adalah ilustrasi dari teknik RAPD (Gambar 2.7).



**Gambar 2.7.** Analisis Molekular RAPD

## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Teknologi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA ITS dan Rumah Sakit Khusus Infeksi (RSKI) Universitas Airlangga. Iradiasi benih dilakukan di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta. Penelitian dilaksanakan dari bulan Oktober 2016 hingga Maret 2017.

### **3.2. Metode Yang Digunakan**

#### **3.2.1. Sterilisasi Peralatan**

Proses sterilisasi alat seperti cawan petri, scalpel, dan pinset dilakukan dengan cara dicuci menggunakan sabun cair. Alat yang telah dicuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan kertas. Alat tersebut di *autoclave* dengan suhu 121°C tekanan 1.5 atm selama 15 menit. Alat yang telah di *autoclave* diletakkan ke dalam *laminar air flow* (LAF).

#### **3.2.2. Sterilisasi Bahan**

Bahan yang digunakan yaitu kertas *tissue*, kertas saring dan kapas disterilisasi dengan cara dibungkus ke dalam plastik. Bahan tersebut kemudian di *autoclave* dengan suhu 121°C tekanan 1.5 atm selama 15 menit. Bahan yang telah di *autoclave* diletakkan ke dalam *laminar air flow* (LAF).

#### **3.2.3. Iradiasi Sinar Gamma**

Iradiasi sinar gamma dilakukan di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), Badan Tenaga Nuklir Nasional (Batan), Jakarta dengan perlakuan iradiasi sinar gamma pada dosis 0 gy, 100 gy, 200 gy dan 300 gy. Berdasarkan penelitian Masruroh, *et al.*, (2015) iradiasi sinar gamma dosis 100 dan 200 gy berpotensi menghasilkan mutan padi berumur pendek dan

daya hasil tinggi. Benih yang digunakan untuk iradiasi sebanyak 20 gram tiap perlakuan.

#### **3.2.4. Uji Vigoritas dan Viabilitas**

Sebelum pengujian vigor dan viabilitas dilakukan sterilisasi benih. Benih disterilisasi dengan cara dikupas kulit bijinya secara manual tanpa melukai embrio benih. Benih yang sudah masak fisiologis direndam selama 4 jam untuk mempercepat tumbuhnya kecambah dan menghasilkan bibit yang vigor (Matsushima dan Sakagami, 2013). Benih yang tenggelam digunakan sebagai bahan uji. Benih dicuci dengan sabun cair kemudian dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, benih disterilkan dengan antifungal 2 gr/100 ml (w/v) selama 15 menit. Benih dikeringkan untuk menghilangkan larutan fungisida. Selanjutnya benih dibawa ke dalam LAF untuk dibilas dengan menggunakan akuades steril sebanyak 3 kali.

Pengamatan uji vigor dan viabilitas benih dilakukan dengan menggunakan metode tanam pada kertas. Umumnya metode tanam pada kertas menggunakan cawan Petri sebagai wadah untuk mengecambahkan benih. Prosedur kerja uji tanam pada kertas menurut Lesilolo, *et al.*, (2013) sebagai berikut, benih murni yang sudah disortir dengan perendaman diambil secara acak. Kertas saring sebanyak tiga lembar disiapkan untuk tiap jenis benih yang diujicobakan. Tiap percobaan diulang sebanyak tiga kali. Kertas saring digunting bentuk lingkaran seperti bentuk dasar cawan Petri kemudian dimasukkan dan basahi kertas dengan air. Setelah kertas telah basah secara merata, air ditiriskan hingga tidak ada lagi air yang menetes. Benih ditanam sebanyak 20 benih tiap ulangan diatas kertas saring. Cawan Petri ditutup untuk mencegah kontaminasi. Pengamatan dilakukan terhadap kecambah normal, kecambah abnormal, benih keras, benih segar tidak tumbuh dan benih mati tiap hari selama 7 hari pengamatan. Menurut Sutopo, (2002) untuk evaluasi kecambah digunakan kriteria sebagai berikut,



- a. Kecambah normal  
Kecambah yang memiliki perkembangan sistem perakaran yang baik terutama akar primer dan untuk tanaman yang secara normal menghasilkan akar seminal maka akar ini tidak boleh kurang dari dua. Perkembangan hipokotil yang baik dan sempurna tanpa ada kerusakan pada jaringan – jaringannya. Pertumbuhan plumula yang sempurna dengan daun hijau dan tumbuh dengan baik atau muncul dari koleoptil. Pertumbuhan epikotil yang sempurna dengan kuncup yang normal. Serta memiliki satu kotiledon untuk kecambah dari monokotil dan dua bagi dikotil.
- b. Kecambah Abnormal  
Kecambah yang rusak, tanpa kotiledon, embrio yang pecah dan akar primer yang pendek. Kecambah yang bentuknya cacat, perkembangannya lemah atau kurang seimbang dari bagian – bagian yang penting. Plumula yang terputar, hipokotil, epikotil, kotiledon yang membengkak, akar yang pendek. Koleoptil yang pecah atau tidak mempunyai daun atau kecambah yang kerdil. Kecambah yang lunak.
- c. Benih keras  
Benih yang pada akhir pengujian masih keras karena tidak menyerap air disebabkan kulit yang impermeabel, dianggap sebagai benih yang berkulit keras.
- d. Benih segar tidak tumbuh  
Benih yang telah membengkak karena menyerap air tetapi belum berkecambah pada akhir pengujian.
- e. Benih mati  
Kriteria ini ditunjukkan untuk benih – benih yang busuk sebelum berkecambah atau tidak tumbuh setelah jangka waktu pengujian yang ditentukan, tetapi bukan dalam keadaan dorman.

Parameter viabilitas yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah:

a. Daya Berkecambah (%)

Daya berkecambah ditentukan dengan menghitung jumlah benih yang berkecambah normal selama jangka waktu 7 hari dengan menggunakan rumus ISTA (1972) dalam Kuswanto (1996) sebagai berikut:

$$DK = \frac{JK}{JC} \times 100\%$$

DK = daya berkecambah

JK = jumlah kecambah normal yang dihasilkan

JC = jumlah contoh benih yang diuji

b. Laju Perkecambahan (hari)

Laju perkecambahan ditentukan dengan menghitung jumlah hari yang diperlukan untuk munculnya radikula atau plumula selama jangka waktu tertentu (7 hari) menurut Sadjad, *et al.*, dalam Sutopo (1988) sebagai berikut:

$$LP = \frac{N1T1 + N2T2 + \dots + NXTX}{JB}$$

LP = Laju perkecambahan

N = Jumlah benih yang berkecambah dalam satuan waktu tertentu

T = jumlah waktu antara pengujian awal sampai pengujian akhir pada interval tertentu suatu pengamatan

JB = Jumlah benih yang berkecambah

Parameter vigor yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah:

Keserempakan Tumbuh Benih (%)

Keserempakan tumbuh benih dihitung menggunakan persentase kecambah normal kuat pada hitungan

pengamatan I dan II (hari ke 4), menurut Sadjad (1993) sebagai berikut:

$$Kst = \frac{KK}{TB} \times 100\%$$

Kst = Keserempakan tumbuh

KK = Jumlah kecambah kuat

TB = Total benih yang dianalisis

### 3.2.5. Seleksi Cekaman Kekeringan

Kecambah yang telah tumbuh pada uji vigor dan viabilitas dipindahkan ke dalam botol kultur yang berisi media tanam kapas. Kapas yang digunakan sebagai media, diberikan 10 ml larutan PEG 6000 dengan konsentrasi 0%, 10%, 20% dan 30%. Berdasarkan penelitian Afa, *et al.*, (2012) penggunaan PEG 6000 konsentrasi 25% merupakan konsentrasi yang cukup efektif untuk menduga toleransi padi hibrida terhadap kekeringan. Tiap botol kultur berisi 3 kecambah dengan 3 kali ulangan. Kecambah yang tumbuh diamati untuk parameter daya berkecambah dan tinggi kecambah pada hari ke 7 setelah subkultur tanaman dipindahkan.

### 3.2.6. Ekstraksi DNA

Proses ekstraksi DNA dilakukan pada eksplan yang tumbuh pada konsentrasi PEG 6000 0% dan 30%. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode CTAB (*cetyl trimethyl ammonium bromide*) 3% dengan beberapa modifikasi sesuai dengan penelitian Saputro (2012). Tahapan ekstraksi DNA sebagai berikut, plumula daun ditimbang dengan berat 55 – 80 mg kemudian dimasukkan ke dalam *microtube* 1,5 ml. Ditambahkan CTAB 3% (100µl) kemudian digerus sampai halus. Diinkubasi di *waterbath* 15 menit pada suhu 60°C kemudian ditambahkan CTAB 3% (100µl) dan divortex selama 5 detik. Diinkubasi di *waterbath* 20 menit pada suhu 60°C dan sesekali di vorteks kemudian ditambahkan 500µl CIAA (*chloroform isoamylalcohol*) dan diinversi dengan pelan. Dilakukan sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm, supernatan diambil dan

dipindahkan ke *microtube* baru. Ditambahkan etanol absolut dingin (1:1) lalu disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam. Dilakukan sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 12000 rpm kemudian supernatan yang dihasilkan dibuang. Pelet ditambahkan etanol 70% dingin sebanyak 400-500  $\mu\text{l}$  dan dilakukan sentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 12000 rpm. Supernatan dibuang pada masing – masing sampel. Pellet yang terbentuk dikeringkan dan ditambahkan TBE buffer pH 8 (50  $\mu\text{l}$ ) kemudian disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ . Hasil ekstraksi DNA di elektroforesis dengan gel agarosa 0,8% untuk melakukan pengamatan hasil ekstraksi DNA.

### 3.2.7. Pengamatan Kualitas dan Kuantitas DNA

Kalibrasi spektrofotometer harus dilakukan sebelum digunakan untuk pengukuran sampel DNA. Sebanyak 400  $\mu\text{l}$  ddH<sub>2</sub>O dimasukkan ke dalam kuvet lalu dimasukkan ke dalam spektrofotometer dan ditekan tombol *read blank* untuk kalibrasi. Total volume yang digunakan untuk pengukuran pada spektrofotometer sebanyak 400  $\mu\text{l}$  dan faktor pengenceran 200 kali, panjang gelombang 260 nm. Larutan blanko yang digunakan adalah ddH<sub>2</sub>O sebanyak 400  $\mu\text{l}$ . Sebanyak 2  $\mu\text{l}$  sampel DNA dimasukkan ke dalam kuvet kemudian ditambahkan ddH<sub>2</sub>O sebanyak 398  $\mu\text{l}$ . Konsentrasi DNA diukur pada panjang gelombang 260 nm dan kemurnian DNA diukur dengan perbandingan absorban 260/280 (OD 260/280). Tahap selanjutnya DNA diencerkan dengan konsentrasi akhir 50  $\mu\text{g/ml}$  untuk proses amplifikasi PCR.

Tingkat kemurnian DNA berkorelasi dengan kualitas DNA. Menurut Hendra, *et al.*, (2013), kualitas DNA dapat ditentukan dengan cara menghitung rasio antara nilai OD<sub>260</sub> dan nilai OD<sub>280</sub> pada sampel DNA yang diukur melalui spektrofotometer. Kategori DNA dinyatakan sebagai berikut:

- a. Nilai rasio OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> (*optical density*) yang berkisar antara 1,8 – 2,0 maka DNA dinyatakan murni (Muladno, 2002).

- b. Apabila rasio  $OD_{260}/OD_{280} < 1,8$  menunjukkan adanya kontaminasi protein pada hasil ekstraksi dan untuk menghilangkannya ditambahkan protease (Devereux dan Wilkinson, 2004).
- c. Jika rasio  $OD_{260}/OD_{280} > 2,0$  maka DNA dikatakan terkontaminasi RNA dan untuk menghilangkannya ditambahkan ribonuklease (Khosravinia, *et al.*, 2007).

### 3.2.8. Pembuatan Gel Agarosa

*Gel* agarosa yang digunakan dalam penelitian ini ada dua yakni *gel* agarosa 0,8% dan *gel* agarosa 2%. *Gel* agarosa 0,8% digunakan untuk melakukan pengamatan hasil ekstraksi DNA dan *gel* agarosa 2% digunakan untuk melihat produk PCR. Pembuatan *gel* agarosa 0,8% dilakukan dengan menggunakan serbuk agarosa sebanyak 0,32 gram sedangkan untuk pembuatan *gel* agarosa 2% serbuk agarosa digunakan sebanyak 0,8 gram. Serbuk agarosa dicampurkan dengan larutan TBE 0,5x sebanyak 40 ml di dalam Erlenmeyer. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *hot plate magnetic stirrer* sehingga didapatkan larutan jernih dan mendidih. Suhu larutan dibiarkan turun hingga 40°C dan ditambahkan *ethidium bromide* (EtBr) 250 µg/ml sebanyak 5 µl. Kemudian dituang ke dalam cetakan *gel* dan dibiarkan hingga memadat.

### 3.2.9. Analisis *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD)

Analisis RAPD dilakukan dengan cara mencampurkan reagen (Tabel 3.1) sebanyak 25 µl dengan primer acak yang tertera pada (Tabel 3.2). Setelah itu, dilakukan analisis PCR menggunakan PCR *Rotor-Gene Q*. PCR diprogram untuk 30 siklus meliputi tahapan seperti pada Gambar 3.1. Kemudian produk PCR di visualisasi dengan menggunakan *elektroforesis DNA Mupid – exu submarine electrophoresis system*. Pada teknik elektroforesis menggunakan *gel* agarosa 2% yang ditambahkan 0.5x buffer Tris-Borat-EDTA (TBE) dan di *running* atau dijalankan pada tegangan 50 volt. Fragmen DNA yang telah

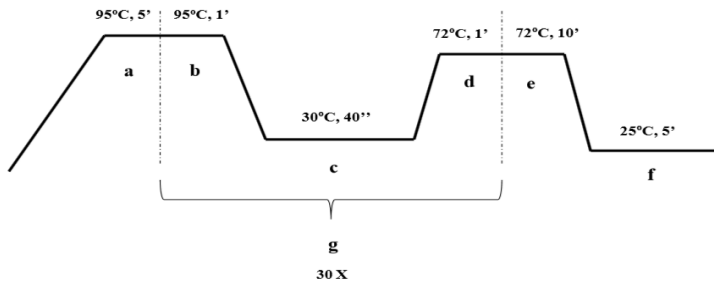
terseparasi di dokumentasikan dengan *UV Light Transilluminator Biostep*. Hasil PCR dianalisis dengan melakukan skoring. Setiap pita RAPD dianggap sebagai satu lokus putatif bialel (*single biallelic locus*) (Williams, *et al.*, 1990). Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas yang digunakan untuk skoring: ada (1) dan kosong (0).

**Tabel 3.1.** PCR *mixture* untuk RAPD.

Komponen	Konsentrasi	Volume
Bioline MyTaq Red Mix (2X)	2X	12,5 µL
Primer acak	100 nM	1,5 µL
ddH <sub>2</sub> O steril	-	9,5 µL
DNA template	100 ng/l	1,5 µL
Volume Total		25 µL

**Tabel 3.2.** Daftar primer dan urutan basa nitrogen yang digunakan untuk analisis RAPD.

No	Primer	Urutan Primer (5' – 3')	Jumlah Pasangan Basa
1	OPA 02	TGC CGA GCT G	10
2	OPA 10	GTG ATC GCA G	10
3	OPD 08	GTG TGC CCC A	10



**Gambar 3.1.** Tahap Proses PCR: a. denaturasi awal, b. denaturasi, c. *annealing*, d. ekstensi, e. ekstensi akhir, f. *hold*, dan g. satu siklus PCR.

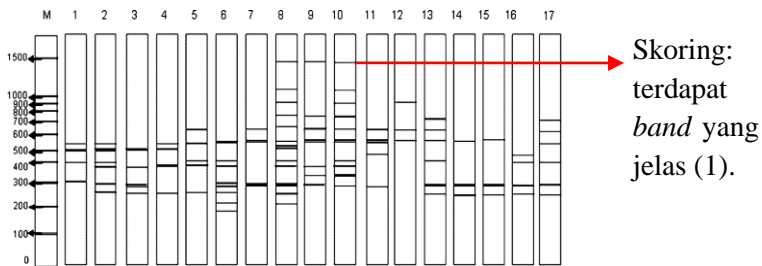
### 3.3. Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Pada pengujian vigor dan viabilitas digunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu dosis iradiasi. Hasil yang diperoleh dari rumus analisa daya berkecambah dianalisis menggunakan *software* SPSS dengan uji lanjutan Duncan taraf kepercayaan 5%.

Pada penelitian seleksi cekaman kekeringan digunakan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor yaitu konsentrasi PEG pada parameter daya berkecambah. Total unit percobaan sebanyak 16 cawan Petri. Pengamatan dilakukan selama 7 hari. Data hasil persentase daya berkecambah dianalisis dengan ANOVA *one way* dengan uji lanjutan Duncan taraf 5% menggunakan *software* SPSS.

Parameter tinggi kecambah digunakan rancangan acak lengkap (RAL) dua faktor dengan dosis iradiasi (faktor a) dan konsentrasi PEG (faktor b). Total unit percobaan sebanyak 16 cawan Petri dengan ulangan 20 kecambah tiap cawan. Pengamatan dilakukan selama 7 hari. Data tinggi kecambah dianalisis dengan *General Linier Model Univariate* dengan uji lanjutan Duncan taraf 5%. Analisis dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS.

Keragaman genetik hasil dari produk PCR dengan teknik RAPD dianalisis dengan metode deskriptif berupa deskripsi sifat fenotip dan penentuan penanda DNA yang sesuai dengan padi Varietas Bahbutong. Setiap pita RAPD dianggap sebagai satu lokus putatif bialel (*single biallelic locus*) (Williams, *et al.*, 1990). Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas yang digunakan untuk skoring: ada (1) dan kosong (0) (Poerba, *et al.*, 2012). Contoh hasil analisis RAPD dapat dilihat pada Gambar 3.2.



**Gambar 3.2.** Analisis Produk PCR dengan Skoring.



## **BAB IV**

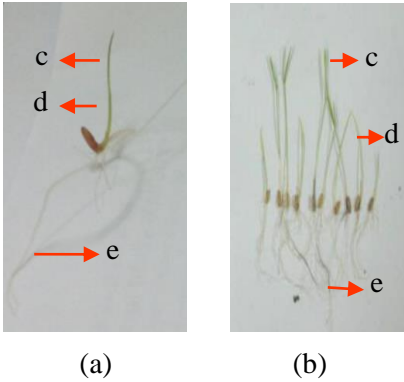
### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. Pengujian Vigoritas dan Viabilitas Benih**

Pengujian vigoritas dan viabilitas benih dilakukan untuk mengetahui kualitas benih padi varietas Bahbutong yang telah di iradiasi. Menurut Subantoro dan Prabowo (2013), vigoritas benih adalah kemampuan benih untuk tumbuh normal pada keadaan lingkungan yang sub optimal. Sedangkan viabilitas benih adalah daya hidup benih yang ditunjukkan dengan adanya aktivitas metabolisme untuk perkecambahan dan pertumbuhan kecambah (Ilyas, 2012).

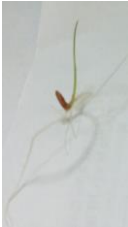





Benih padi yang telah di iradiasi dikecambahkan pada media kertas saring yang telah ditambahkan akuades steril sebanyak 10 ml. Proses perkecambahan dilakukan selama tujuh hari di ruangan bersuhu 26°C dengan tiga ulangan. Selama masa inkubasi, tidak terdapat gangguan mikroorganisme karena kondisi ruangan yang steril. Benih diamati pada hari ke tujuh perkecambahan, kemudian dilakukan observasi pada parameter perkecambahan.



Kecambah yang tumbuh dikategorikan dalam beberapa kelas yaitu kecambah normal, abnormal, mati, keras dan benih segar tidak tumbuh. Kecambah normal memiliki sistem perakaran, hipokotil dan plumula yang sehat (Gambar 4.1). Ciri dari kecambah abnormal hanya memiliki akar primer dan tidak mempunyai hipokotil atau plumula, sedangkan benih segar tidak tumbuh adalah benih yang telah mengalami imbibisi namun tidak dapat tumbuh hingga akhir pengujian. Namun benih segar tidak tumbuh masih memiliki potensi tumbuh menjadi normal. Persentase masing – masing karakteristik benih hasil iradiasi terdapat pada Tabel 4.1.



**Gambar 4.1.** Kecambah Normal (a) Kecambah normal varietas Bahbutong (Dokumentasi Pribadi, 2017); (b) Kecambah normal variertas Ciherang (Rusd, 2011); (c) Plumula sehat; (d) Hipokotil sehat: dan (e) Radikula sehat.

**Tabel 4.1.** Hasil Pengamatan Daya Berkecambah

Kategori	Dosis Iradiasi (Gy)			
	0	100	200	300
Kecambah Normal	 93.33%	 98.33%	 93.33%	 96.67%
Kecambah Abnormal	 6.67%	-	 6.67%	-

<b>Benih Keras</b>	-	-	-	 3.33%
<b>Benih Segar Tidak Tumbuh</b>	-	 1.67%	-	-
<b>Benih Mati</b>	-	-	-	-

Hasil pengamatan daya berkecambah dilakukan untuk menghitung daya berkecambah benih hasil iradiasi ataupun kontrol. Daya berkecambah merupakan parameter pertama untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap kualitas benih. Presentase perkecambahan yang tinggi mengindikasikan kesehatan benih yang baik. Persentase daya berkecambah dianalisis menggunakan ANOVA *one way* taraf kepercayaan 5% dengan uji lanjutan Duncan untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan. Analisis dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS. Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2.** Rerata perlakuan iradiasi sinar gamma terhadap parameter daya berkecambah

Dosis Iradiasi (Gy)	Daya Berkecambah (%)			Rerata
	1	2	3	
0	85	100	95	93.33a
100	95	100	100	98.33a
200	90	95	95	93.33a
300	95	100	95	96.67a

**Keterangan:** angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Rerata daya berkecambah menunjukkan bahwa peningkatan dosis iradiasi memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata (nilai  $p = 0.482$ ; taraf 5%) (Tabel 4.2). Hasil uji daya berkecambah padi varietas Bahbutong perlakuan dosis 100 Gy memiliki rerata daya berkecambah tertinggi, yaitu sebesar 98.33% diikuti dosis 300 Gy sebesar 96.67% dan 200 Gy sebesar 93.33%. Penelitian padi yang dilaporkan oleh Sarawgi dan Soni (1993), Sanjeev, *et al.*, (1998), Sareen dan Koul (1999), Cheema dan Atta (2003), dan Harding, *et al.*, (2012) menyatakan bahwa penurunan daya berkecambah tidak mengikuti dengan peningkatan dosis iradiasi sinar gamma.

Peningkatan daya berkecambah tertinggi terjadi pada dosis 100 Gy. Pada dosis ini, perkecambahan benih mengalami peningkatan karena meningkatnya penyerapan oksigen untuk mematahkan dormansi (Minisi, *et al.*, 2013), menstimulus aktivasi RNA atau sintesis protein (Abdel-Hady, *et al.*, 2008) dan dapat menginduksi sinyal pertumbuhan melalui peningkatan kemampuan anti-oksidatif sel atau dengan mengubah persinyalan hormon tumbuhan (Ali, *et al.*, 2016). Salah satu hormon tumbuhan yang berperan dalam perkecambahan adalah giberelin. Giberelin berperan sebagai pemicu terjadinya perkecambahan

dengan cara mengaktifkan enzim katabolisme dan menghambat kerja hormon asam absisat (Miransari and Sminth, 2014).

Penurunan persentase daya berkecambah didapatkan seiring dengan peningkatan dosis iradiasi sinar gamma. Menurut Sasikala dan Kalaiyarasi (2010) dan Kadhimi, *et al.*, (2016) pada tanaman padi semakin meningkatnya dosis iradiasi yang diberikan, maka daya berkecambah akan menurun. Hal ini disebabkan karena pengaruh iradiasi sinar gamma yang meningkatkan cekaman oksidatif sehingga terjadi perubahan konformasi, oksidasi, pelepasan ikatan kovalen dan terbentuknya radikal bebas (Kiong, *et al.*, 2008). Radikal bebas terbentuk dari partikel sinar gamma yang berinteraksi dengan atom air. Pada dosis tinggi, radikal bebas memiliki kemampuan untuk merusak fisiologi, morfologi, anatomi dan biokimia tumbuhan.

Radikal bebas dapat disebabkan karena peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) yang menimbulkan kerusakan DNA dan mutasi di sel tumbuhan. Dalam konsentrasi rendah, ROS berperan dalam fungsi fisiologis seperti ekspresi gen, pertumbuhan sel dan pertahanan melawan infeksi dengan menginduksi faktor transkripsi (Sansenya *et al.*, 2017). Namun dalam konsentrasi yang berlebih, ROS dapat menyebabkan kerusakan DNA seperti modifikasi basa DNA, putusnya untai tunggal atau ganda DNA, hilangnya purin, rusaknya gula deoksiribosa, saling silang DNA-protein dan rusaknya sistem perbaikan DNA (Bhattacharya, 2015).

Selain pengujian daya berkecambah, pengujian juga dilakukan terhadap laju perkecambahan. Parameter laju perkecambahan dilakukan untuk mengetahui jumlah hari yang diperlukan benih padi varietas Bahbutong untuk menumbuhkan radikula atau plumula selama jangka waktu tertentu (tujuh hari). Dalam jangka waktu 7 hari, benih yang telah memiliki radikula atau plumula dihitung menggunakan rumus laju perkecambahan. Data yang telah diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA *one way* taraf kepercayaan 5% dengan uji lanjutan Duncan untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan. Analisis dilakukan

menggunakan *software* SPSS. Hasil analisis laju perkecambahan benih padi varietas Bahbutong dapat dilihat pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3.** Rerata perlakuan iradiasi sinar gamma terhadap parameter laju perkecambahan

<b>Dosis Iradiasi (Gy)</b>	<b>Laju Perkecambahan (Hari)</b>			<b>Rerata</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	
<b>0</b>	2.05	2	2.15	2.06a
<b>100</b>	2.2	2.1	2.1	2.13a
<b>200</b>	2.05	2.25	2.1	2.13a
<b>300</b>	2	2.35	2.1	2.15a

**Keterangan:** angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Rerata laju perkecambahan pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa peningkatan dosis iradiasi memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata (nilai  $p = 0.816$ ; taraf 5%). Laju perkecambahan padi varietas Bahbutong perlakuan dosis 100 Gy dan 200 Gy membutuhkan waktu selama 2 hari 13 jam, sedangkan dosis 300 Gy membutuhkan waktu selama 2 hari 15 jam. Apabila dibandingkan dengan kontrol, padi varietas Bahbutong yang diberi perlakuan iradiasi membutuhkan waktu 7 hingga 9 jam lebih lama untuk menumbuhkan radikula setelah perkecambahan.

Benih perlakuan dosis 300 Gy membutuhkan waktu lebih lama untuk menumbuhkan radikula. Hal ini disebabkan karena dosis iradiasi mempengaruhi persentase perkecambahan. Penelitian Hameed *et al.*, (2008) melaporkan bahwa tingkat persentase perkecambahan menurun secara signifikan pada iradiasi dosis tinggi berkisar antara 400 – 500 Gy dan pada dosis diatas 500 Gy persentase perkecambahan menurun secara drastis pada tanaman buncis. Dosis iradiasi tinggi akan menghambat perkecambahan dengan menurunkan laju perkecambahannya (Li,

*et al.*, 2012). Khawar, *et al.*, (2010) melaporkan bahwa peningkatan dosis iradiasi sinar gamma pada benih jagung, gandum, buncis dan kacang hitam menghambat perkecambahan benih. Namun pada dosis iradiasi rendah, iradiasi akan menstimulasi perkecambahan melalui proses aktivasi RNA untuk sintesis protein (Borzouei, *et al.*, 2010).

Iradiasi dapat meningkatkan sensitivitas tanaman. Menurut Nepal, *et al.*, 2014 iradiasi meningkatkan sensitivitas tanaman dengan mereduksi jumlah zat pengatur tumbuh endogenus terutama sitokinin dengan cara mendegradasi atau menurunkan tingkat sintesisnya. Iradiasi sinar gamma tidak secara langsung menurunkan akumulasi sitokinin, namun iradiasi mempengaruhi degradasi sel dan sintesis sitokinin. Berdasarkan Shukla, *et al.*, 2016 sintesis sitokinin membutuhkan fungsi optimal dari organel sel mitokondria untuk menghasilkan ATP dan menyediakan kalsium sehingga m-RNA dapat berperan sebagai *template* sintesisnya. Iradiasi dapat mendegradasi mitokondria dan nukleus karena membran sel dan membran nukleus sensitif terhadap paparan iradiasi, namun sitokinin yang telah diakumulasi dalam granula tidak akan mengalami degradasi karena granula memiliki struktur sel yang resisten terhadap iradiasi.

Setelah dilakukan pengujian terhadap viabilitas benih, pengujian dilakukan terhadap vigoritas benih. Kecerempakan tumbuh benih merupakan satu parameter pengujian vigoritas benih. Parameter kecerempakan tumbuh benih diamati dengan menghitung persentase kecambah normal. Perhitungan dilakukan di hari ke-1 dan di hari ke-4 fase perkecambahan. Kecambah normal tersebut dihitung menggunakan rumus kecerempakan tumbuh benih. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA *one way* taraf kepercayaan 5% dengan uji lanjutan Duncan untuk mengetahui adanya perbedaan. Analisis dilakukan menggunakan *software* SPSS. Hasil analisis kecerempakan tumbuh benih padi varietas Bahbutong dapat dilihat pada Tabel 4.4.

**Tabel 4.4.** Rerata perlakuan iradiasi sinar gamma terhadap parameter keserempakan tumbuh benih

Dosis Iradiasi (Gy)	Keserempakan Tumbuh Benih (%)			Rerata
	1	2	3	
0	100	100	100	100a
100	100	100	100	100a
200	100	95	100	98.33a
300	95	95	100	96.67a

**Keterangan:** angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Tabel 4.4. menunjukkan bahwa peningkatan dosis memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata (nilai  $p = 0.219$ ; taraf 5%). Perlakuan dosis 100 Gy menunjukkan presentase keserempakan benih yang sama dengan kontrol yaitu sebesar 100%, namun pada dosis 200 Gy dan 300 Gy terjadi penurunan sebesar 98.33% dan 96.67% berturut – turut.

Persentase keserempakan tumbuh benih padi varietas Bahbutong dapat dipengaruhi oleh paparan cahaya yang merata di laboratorium. Wardani dan Latifah (2016) melaporkan bahwa perkecambahan pada ruangan terbuka di laboratorium lebih serempak karena paparan cahaya yang merata pada benih *Dictyoneura acuminata*. Persentase keserempakan tumbuh benih juga akan mempengaruhi keseragaman panjang hipokotil. Penelitian Pancaningtyas, *et al.*, (2014) pada benih kakao melaporkan nilai keserempakan benih yang tinggi akan mempengaruhi keseragaman munculnya radikula yang berpengaruh terhadap keseragaman panjang hipokotil. Keseragaman tumbuh hipokotil akan menunjukkan kemampuan benih sebagai kecambah normal kuat.

Penurunan tingkat keserempakan tumbuh benih berkaitan dengan pengaruh umum iradiasi yang sering ditunjukkan dengan kerusakan fisiologis seperti hambatan pertumbuhan, kematian dan



sterilitas tanaman (Surya dan Soeranto, 2006). Selain kerusakan fisiologis, terdapat efek deterministik akibat iradiasi sinar gamma. Menurut Utami, (2013), efek deterministik adalah efek yang disebabkan karena kematian sel akibat paparan radiasi. Efek deterministik terjadi apabila dosis yang diterima tanaman diatas dosis ambang (*threshold dose*) dan umumnya timbul beberapa saat setelah iradiasi. Tingkat keparahan efek deterministik akan meningkat bila dosis yang diterima lebih besar dari dosis ambang.

Ketidakeragaman tumbuh dapat diakibatkan oleh sifat genetik yang tidak sama, atau kondisi lingkungan yang tidak homogen. Penelitian Lesilolo, *et al.*, (2012) melaporkan bahwa lingkungan tumbuh yang telah homogen dengan suhu 23°C – 28°C dan kelembaban 60% namun nilai keserempakan tumbuh cenderung rendah yaitu 51.66% pada penyimpanan 30 hari, 67.77% pada penyimpanan 60 hari dan 47.22% pada penyimpanan 90 hari. Dapat diduga ketidakeragaman tersebut disebabkan karena sifat genetik yang tidak sama.

Benih yang memiliki nilai vigor yang rendah umumnya disebabkan benih tidak mampu memanfaatkan energi untuk metabolisme dibandingkan dengan benih yang memiliki nilai vigor tinggi. Menurut Syafruddin dan Miranda (2015), vigor benih yang tinggi menyebabkan benih toleran dan berkembang pada kondisi lahan yang sub-optimum, berupa lingkungan yang kurang sesuai untuk pertumbuhan dan perkecambahan benih. Berdasarkan Lesilolo *et al.*, (2012) keserempakan benih yang baik berkisar antara 40 – 70 %. Data yang terdapat pada Tabel 4.4, menunjukkan nilai keserempakan tumbuh benih diatas 90%, maka benih padi varietas Bahbutong termasuk dalam benih yang memiliki nilai vigor baik.

#### **4.2. Seleksi Cekaman Kekeringan**

Cekaman kekeringan merupakan salah satu faktor pembatas dalam pertumbuhan padi, berpengaruh terhadap aspek pertumbuhan tanaman meliputi anatomis, morfologis, fisiologis dan biokimia tanaman. Tanaman yang terpapar cekaman

kekeringan akan mengalami penurunan potensial air di daun, terganggunya pembentukan klorofil dan mengalami penurunan produksi saat panen (Hemon, *et al.*, 2012). Untuk meningkatkan ketahanan padi varietas Bahbutong hasil iradiasi terhadap cekaman kekeringan, dilakukan simulasi dengan menggunakan larutan polietilen glikol (PEG) 6000. Senyawa PEG dengan berat molekul lebih dari 4000 diketahui dapat menginduksi cekaman kekeringan pada tanaman dengan mengurangi potensial air tanpa menyebabkan keracunan (Harahap, *et al.*, 2013). Seleksi cekaman kekeringan menggunakan senyawa PEG telah banyak dilakukan untuk memperoleh tanaman toleran cekaman kekeringan.

Seleksi cekaman kekeringan padi varietas Bahbutong dilakukan dengan melakukan perkecambahan benih padi pada 3 gr kapas yang telah diberi larutan PEG konsentrasi 0%, 10%, 20%, dan 30% sebanyak 60 ml. Masa inkubasi selama 7 hari dan parameter yang diukur adalah persentase daya berkecambah dan tinggi kecambah. Parameter daya berkecambah dianalisis dengan menggunakan ANOVA *one way* taraf kepercayaan 5% dengan uji lanjutan Duncan untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan iradiasi dan konsentrasi PEG yang diberikan. Analisis dilakukan dengan menggunakan software SPSS. Hasil analisis daya berkecambah dapat dilihat pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.5.** Rerata perlakuan konsentrasi PEG terhadap parameter persentase daya berkecambah

Konsentrasi PEG (%)	Daya berkecambah (%)			
	0 Gy	100 Gy	200 Gy	300 Gy
0	90a	95a	100a	95a
10	100a	100a	100a	100a
20	90a	100a	90a	100a
30	20b	20b	5b	0b

**Keterangan:** angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Penggunaan PEG menurunkan persentase perkecambahan pada benih padi varietas Bahbutong yang telah di iradiasi secara signifikan (nilai  $p = 0.00$ , taraf 5%) (Tabel 4.5). Rendahnya tingkat perkecambahan benih disebabkan oleh kemampuan benih menyerap air. Benih tidak mampu menyerap air pada fase perkecambahan karena dipengaruhi tingginya konsentrasi PEG. Hasil yang sama telah dilaporkan pada penelitian Kaydan dan Yagmur (2008) menggunakan benih *Triticale*. Peningkatan konsentrasi PEG menyebabkan penurunan daya berkecambah, hal ini disebabkan karena penurunan gradien potensial air antara benih dengan lingkungannya (Kaydan dan Yagmur, 2008; Basha, *et al.*, 2015). Dalam menghadapi cekaman kekeringan, tanaman dapat melakukan mekanisme osmotik yang diawali dengan perubahan gula osmotik, terutama pada gula silosa, dan terinduksinya pembentukan protein berbobot molekul rendah (Sujinah dan Jamil, 2016).

Konsentrasi PEG 10% setara dengan tekanan osmotik -1.0 bar atau -0.10 MPa, konsentrasi 20% setara dengan -3.9 bar atau -0.39 MPa, sedangkan konsentrasi 30% setara dengan -8.4 bar atau -0.84 MPa (Keshavarzi, 2012; Sani dan Boureima, 2014). Perlakuan konsentrasi 30% memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi PEG 10% dan 20%. Penelitian Gharoobi, *et al.*, (2012) melaporkan bahwa tekanan osmotik lebih besar dari -0.40 MPa tidak memberikan pengaruh pada perkecambahan jagung, *barley* dan *canola*. Penelitian Mohammadkhani and Heidari (2008) melaporkan bahwa perkecambahan jagung menurun drastis pada tekanan -1.03 MPa dan tidak terjadi perkecambahan sama sekali pada tekanan -1.76 MPa. Penurunan perkecambahan secara signifikan tampak pada perlakuan iradiasi dosis 300 Gy. Dehpour, *et al.* (2011) melaporkan bahwa penurunan perkecambahan terjadi pada benih padi yang di iradiasi sinar gamma dan dicekam dengan larutan NaCl.

Respon morfologi yaitu tinggi kecambah diamati untuk mengetahui pengaruh konsentrasi PEG terhadap morfologi padi

varietas Bahbutong. Parameter tinggi kecambah diamati setelah tujuh hari masa perkecambahan. Pengukuran dilakukan menggunakan kertas millimeter blok. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *General Linier Model Univariate* taraf kepercayaan 5% dengan uji lanjutan Duncan. Analisis dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS. Hasil analisis tinggi kecambah dapat dilihat pada Tabel 4.6.

**Tabel 4.6.** Rerata perlakuan konsentrasi PEG terhadap parameter tinggi kecambah

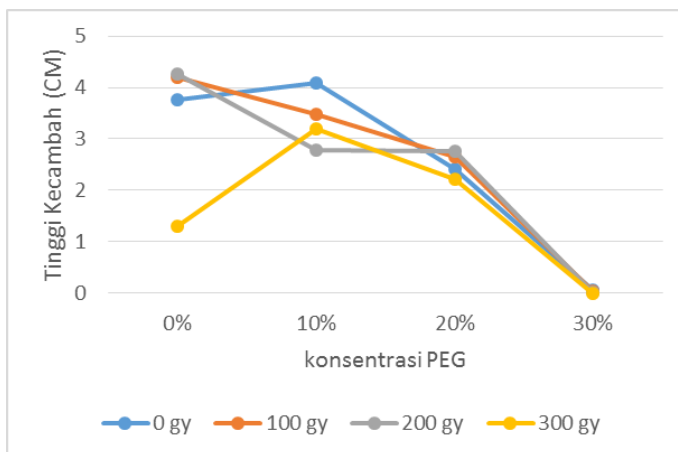
Konsentrasi PEG (%)	Tinggi kecambah (cm)			
	0 Gy	100 Gy	200 Gy	300 Gy
0	3.77a	4.20a	4.27a	1.30a
10	4.08a	3.48a	2.77a	3.19a
20	2.42ab	2.66ab	2.75ab	2.21ab
30	0.25b	0.15b	0.10b	0b

**Keterangan:** angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 4.6 PEG dapat menurunkan presentase pertumbuhan morfologi yaitu tinggi kecambah (nilai  $p = 0.00$ , taraf 5%). Terdapat interaksi antara perlakuan dosis iradiasi dengan perlakuan cekaman kekeringan. Pada perlakuan 0%, tinggi kecambah menurun drastis pada dosis 300 Gy apabila dibandingkan dengan kontrol. Diduga hal ini terjadi karena pertumbuhan tinggi kecambah terhambat karena terjadi mutasi di dalam sel tumbuhan. Mekanisme sinar gamma dalam menyebabkan mutasi yaitu dengan berionisasi dengan molekul  $H_2O$ . Ionisasi tersebut menyebabkan pemisahan atom H dan O yang akan menghasilkan radikal bebas  $H^+$  dan  $OH^-$ . Radikal bebas ini akan bereaksi dengan genom DNA dengan memisahkan elektron DNA. Pemisahan elektron ini menyebabkan

kerusakan DNA dan aktivitas biologis. Kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas akan mempengaruhi perkembangan sel tumbuhan secara langsung berpengaruh pada karakter morfologis tumbuhan (El-Khateeb, *et al.*, 2017).

Pada perlakuan 30%, tinggi kecambah secara drastis terjadi pada perlakuan konsentrasi PEG 30% (Grafik 4.1). Benih padi kontrol memiliki tinggi 0.25 cm pada perlakuan konsentrasi 30%. Dalam kondisi normal, pertumbuhan tinggi kecambah padi varietas Bahbutong mencapai 3.77 cm. Sedangkan padi varietas Bahbutong hasil iradiasi memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan kecambah kontrol. Sampel kontrol dengan perlakuan konsentrasi PEG 10% memiliki tinggi maksimum mencapai 4.08 cm, namun sampel dengan perlakuan iradiasi hanya 3.48 cm. Hal yang serupa terjadi pada penelitian yang dilaporkan oleh Kadhimi, *et al.*, (2016). Benih padi kontrol memiliki tinggi maksimum pada perlakuan konsentrasi PEG 20% mencapai 13.75 cm. Namun sampel dengan perlakuan iradiasi hanya mencapai 9.5 cm.

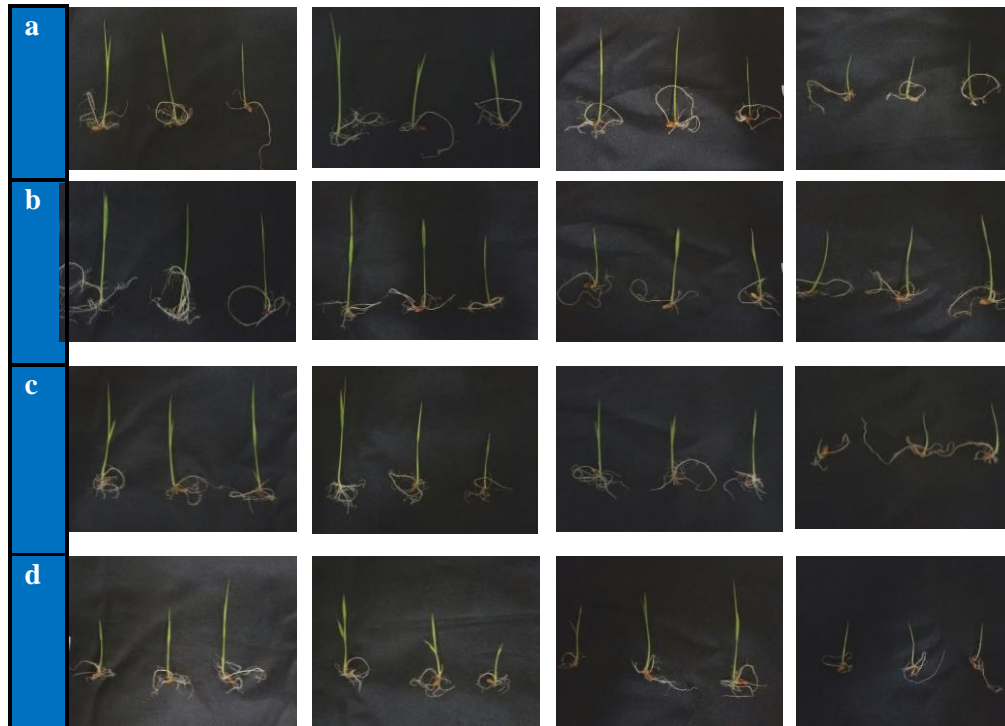


**Gambar 4.2.** Grafik pengaruh konsentrasi PEG pada tinggi kecambah padi varietas Bahbutong yang telah di iradiasi sinar gamma.

Tinggi kecambah mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi PEG saat perkecambahan. Menurut Farooq, *et al.*, (2009), proses awal perkecambahan merupakan salah satu proses fisiologis yang sensitif terhadap kondisi kekeringan dan disebabkan karena adanya penurunan tekanan turgor. Tekanan turgor dipengaruhi oleh penyerapan dan kandungan air dalam sel. Penyerapan air ke dalam sel akan menurun karena PEG menghambat masuknya air ke dalam sel sehingga tekanan turgor akan turun. Rendahnya kandungan air akan mengganggu pembelahan mitosis, pemanjangan sel, dan penyerapan air dari xilem ke sel-sel lain sehingga pertumbuhan morfologis tanaman terhambat (Anjum, *et al.*, 2011).

Respon morfologis dari tumbuhan yang tercekam kekeringan adalah dengan meningkatkan pertumbuhan akar dan menurunkan tingkat pertumbuhan hipokotil. Menurut Sujinah dan Jamil (2016) pertumbuhan bagian atas tanaman lebih banyak berkurang daripada bagian akar, karena terjadi kekurangan air yang lebih besar dan menyebabkan sel – sel mengalami kekeringan dan menyusut. Pada perlakuan konsentrasi PEG 30% memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan kecambah kontrol. Hendrati, *et al.*, (2016) melaporkan bahwa pada kondisi kekeringan tanaman akasia menunjukkan tinggi tanaman yang lebih kecil dibandingkan tanaman yang tumbuh dalam kondisi normal (Gambar 4.3).

Senyawa PEG yang digunakan sebagai simulasi cekaman kekeringan yang menginduksi terjadinya tekanan osmotik sehingga menurunkan potensial air di dalam sel (Govindaraj, *et al.*, 2010). Mekanisme PEG dalam menciptakan kondisi kekeringan adalah dengan menurunkan potensial air pada medium sehingga air tidak tersedia bagi tanaman (Halimursyadah, *et al.*, 2013).



**Gambar 4.3.** Tinggi kecambah Tiap Perlakuan (a) kecambah perlakuan iradiasi 0 Gy (dari kiri ke kanan secara berurutan) konsentrasi cekaman PEG 0%, 10%, 20%, 30%; (b) kecambah perlakuan iradiasi 100 Gy konsentrasi cekaman PEG 0%, 10%, 20%, 30%; (c) kecambah perlakuan 200 Gy konsentrasi cekaman PEG 0%, 10%, 20%, 30%; dan (d) kecambah perlakuan 300 Gy konsentrasi PEG 0%, 10%, 20%, dan 30%. (Dokumentasi Pribadi, 2017)

Potensial air yang rendah di dalam sel akan menurunkan laju metabolisme pada proses fotosintesis (Sokoto dan Muhammad, 2014). Penurunan laju fotosintesis ditandai dengan menutupnya stomata untuk mengurangi fotorespirasi. Menurut Basu, *et al.*, (2016), penutupan stomata akan menyebabkan rendahnya konsentrasi CO<sub>2</sub> di dalam sel karena menurunnya serapan foton untuk reaksi transport elektron sehingga dapat menurunkan jumlah molekul oksigen. Penurunan jumlah molekul oksigen akan mengarah pada produksi spesies oksigen reaktif (ROS).

Mekanisme adaptasi lain dari tanaman terhadap cekaman kekeringan bervariasi bergantung jenis tumbuhan dan tahap perkembangan tumbuhan (Anjum, *et al.*, 2011). Selain mekanisme adaptasi secara fisiologis, tumbuhan juga memiliki mekanisme adaptasi secara biokimiawi. Dalam kondisi tercekam kekeringan, tumbuhan akan mengalami tekanan osmotik. Mekanisme tumbuhan dalam mengatur tekanan osmotik adalah dengan memproduksi senyawa terlarut yang tidak bersifat toksik untuk menjaga keseimbangan osmolit di dalam tubuh tumbuhan. Senyawa metabolit yang sering dijumpai pada tumbuhan yang tercekam kekeringan adalah prolin. Menurut Hendrati, *et al.*, (2016), prolin merupakan senyawa terlarut yang diproduksi tumbuhan untuk mempertahankan turgor sehingga tidak terjadi plasmolisis. Tekanan turgor dipertahankan di atas nol sehingga proses pembelahan sel tetap berlangsung serta menghindari kelayuan (Naiola, 2005).

Tidak semua spesies memproduksi prolin. Pada beberapa spesies memproduksi gula, glycin maupun bethain yang berperan sama seperti prolin sebagai mekanisme biokimiawi dalam kondisi tercekam kekeringan (Ashraf dan Foolad, 2007). Banyak peneliti yang telah melaporkan akumulasi prolin terhadap cekaman kekeringan seperti pada kelapa sawit (Mathius, *et al.*, 2004), kacang tanah (Riduan, *et al.*, 2005), kedelai (Mapegau, 2006), dan pada nilam (Kadir, 2011).



#### 4.3. Analisis Polimorfisme RAPD

Variasi genetik padi varietas Bahbutong di induksi dengan menggunakan teknik iradiasi sinar gamma. Metode iradiasi sinar gamma telah banyak digunakan untuk mengembangkan varietas mutan, meningkatkan ketahanan dan menginduksi sifat-sifat tertentu (Hanafiah, *et al.*, 2010). Iradiasi sinar gamma merupakan salah satu jenis mutagen fisik yang menyebabkan mutasi acak. Ionisasi dari sinar gamma bereaksi secara langsung dengan komponen sel atau bereaksi secara tidak langsung dengan molekul air sehingga menciptakan radikal bebas (Gaswanto, *et al.*, 2016). Radikal tersebut yang menyebabkan kerusakan genetik atau dapat memunculkan sifat baru pada tanaman.

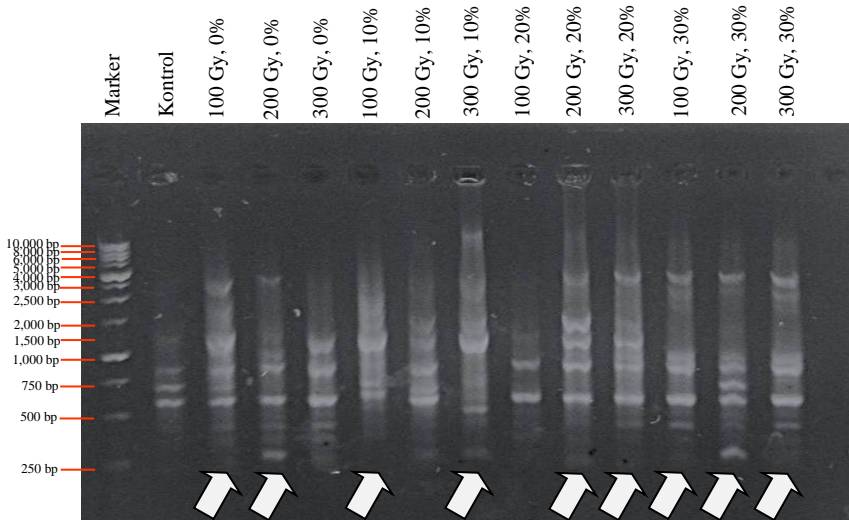
Sifat yang diperoleh dari hasil mutasi dapat dideteksi dengan menggunakan marka molekular. Marka molekular adalah metode deteksi perbedaan genotip secara langsung pada tingkat DNA (Dhillon, *et al.*, 2014). Terdapat berbagai jenis marka molekular, salah satu jenis marka molekular yang efektif dalam deteksi perbedaan sifat adalah *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). Prinsip kerja dari teknik RAPD dengan menggunakan rantai oligonukleotida pendek (10 basa nitrogen) sekuens acak sebagai primer untuk mengamplifikasi sejumlah genom DNA dibawah suhu *annealing* rendah menggunakan PCR (Kumari dan Thakur, 2014).

Proses amplifikasi yang terjadi selama analisis RAPD menghasilkan pita – pita polimorfik yang menunjukkan perbedaan karakter genetik setiap individu yang diamati (Fajarwati, *et al.*, 2012). Polimorfisme terjadi karena basa nitrogen primer berkomplementer dengan fragmen DNA sampel. Primer yang digunakan adalah primer dengan urutan acak, primer tidak spesifik untuk gen tertentu sehingga pita yang muncul diduga dapat mewakili sifat – sifat yang baru.

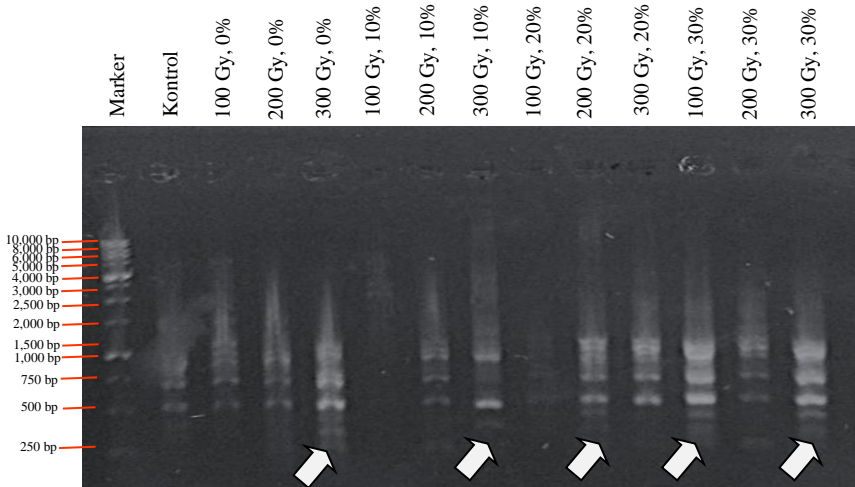
Jumlah pita yang muncul pada DNA tanaman perlakuan, namun tidak muncul pada DNA tanaman kontrol dianggap polimorfisme. Apabila pita yang muncul pada DNA tanaman

perlakuan dan DNA tanaman kontrol adalah sama, maka dianggap monomorfisme. Polimorfisme menurut Karki *et al.*, (2015) adalah variasi sekuens DNA yang terjadi dalam suatu populasi dengan frekuensi 1% atau lebih. Polimorfisme terjadi karena ada perubahan nukleotida, seperti mutasi.

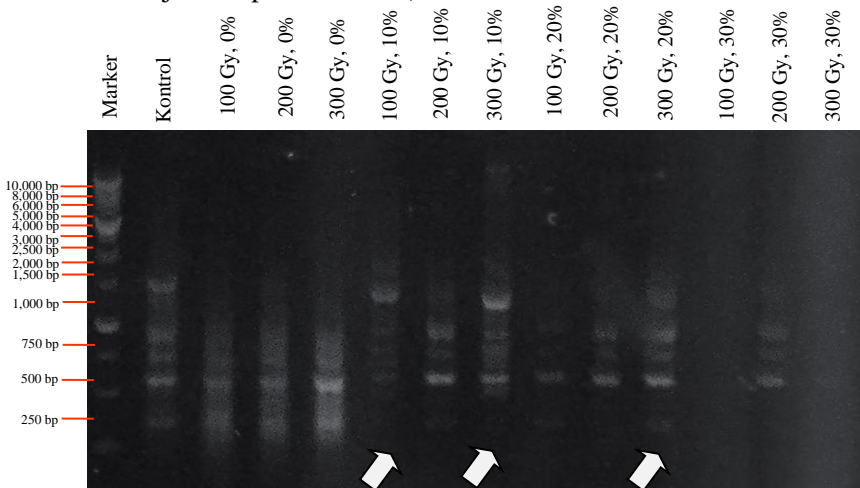
Analisis teknik RAPD padi varietas Bahbutong dilakukan dengan menggunakan 3 jenis primer. Primer OPA 02, OPA 10 dan OPD 08. Pemilihan primer dilakukan secara acak untuk menduga adanya keragaman genetik pada padi varietas Bahbutong yang telah di iradiasi. Analisis DNA dilakukan untuk menduga adanya sifat ketahanan padi varietas Bahbutong pada cekaman kekeringan pada pita yang terbentuk. Hal ini diasumsikan bahwa iradiasi sinar gamma dapat menginduksi keragaman genetik pada padi yang telah diseleksi tahan kekeringan dengan larutan PEG. Hasil amplifikasi dari teknik RAPD dapat dilihat pada gambar 4.4; 4.5 dan 4.6.



**Gambar 4.4.** Visualisasi pita DNA yang teramplifikasi pada padi varietas Bahbutong dengan primer OPA 02. (Tanda panah menunjukkan polimorfisme).



**Gambar 4.5.** Visualisasi pita DNA yang teramplifikasi pada padi varietas Bahbutong dengan primer OPA 10. (Tanda panah menunjukkan polimorfisme).



**Gambar 4.6.** Visualisasi pita DNA yang teramplifikasi pada padi varietas Bahbutong dengan primer OPD 08. (Tanda panah menunjukkan polimorfisme)

Berdasarkan Gambar 4.4; Gambar 4.5; dan Gambar 4.6, ketiga primer yang digunakan menunjukkan polimorfisme. Polimorfisme dilihat dari pita – pita DNA yang menunjukkan adanya perbedaan antara perlakuan dan kontrol. Polimorfisme dari fragmen yang diamplifikasi terjadi disebabkan karena mutasi dari iradiasi sinar gamma. Mutasi tersebut bersifat acak dapat berupa substitusi, delesi atau insersi pada genom DNA sehingga merubah ukuran fragmen DNA sampel (William, *et al.*, 1990).

Penggunaan primer OPA 02 (Gambar 4.4) menghasilkan 9 fragmen DNA polimorfik dan 3 fragmen DNA monomorfik. Pada sampel DNA perlakuan 100 Gy 0% dan 200 Gy 0% mengalami penambahan pita DNA berukuran 3000 bp dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Penambahan pita DNA ini dapat disebabkan karena terjadinya mutasi berupa mutasi titik atau insersi/delesi kecil di sekitar daerah binding primer (Widiastuti, *et al.*, 2013). Mutasi yang dihasilkan dapat terlihat secara fenotipik atau tidak terekspresi. Pada perlakuan konsentrasi PEG 0%, perubahan fenotipik tidak tampak pada kecambah yang diberi perlakuan iradiasi dengan kontrol karna mutasi yang terjadi tidak terekspresikan. Pada sampel DNA perlakuan dosis 100 Gy 10% dan 300 Gy 10% mengalami penambahan pita DNA berukuran 3000 bp dibandingkan dengan kontrol. Penambahan pita dapat disebabkan karena terjadinya mutasi yang disebabkan karena perlakuan sinar gamma. Sinar gamma menghasilkan ion dan radikal bebas dalam bentuk hidroksil ( $\text{OH}^\cdot$ ). Jika radikal hidroksil menempel pada rantai nukleotida DNA, maka untai tunggal DNA patah dan mengalami perubahan gen (Widiastuti, *et al.*, 2013). Perubahan gen yang terjadi dapat berupa penambahan atau kehilangan pita DNA.

Kehilangan pita DNA terjadi pada sampel DNA perlakuan 200 Gy 0%, 300 Gy 0% dan 300 Gy 10% berukuran 750 bp dibandingkan dengan kontrol. Kehilangan pita DNA terjadi disebabkan karena sel mengalami kerusakan secara langsung akibat paparan sinar gamma. Terjadi pemutusan ikatan senyawa – senyawa penyusun DNA (Tetrian, *et al.*, 2008). DNA

yang tersusun atas fosfat, gula dan basa nitrogen mengalami pemutusan ikatan kovalen yang menyebabkan nukleotida tidak fungsional. Nukleotida yang tidak fungsional akan didegradasi oleh sel sehingga terjadi kehilangan pita DNA tertentu pada perlakuan sampel DNA yang di iradiasi.

Pada perlakuan sampel DNA 200 Gy 20%, 300 Gy 20%, 100 Gy 30%, 200 Gy 30% dan 300 Gy 30% menunjukkan adanya pita DNA yang sama berukuran 3000 bp. Kemunculan pita DNA ini diasumsikan sebagai respon molekular sel tumbuhan terhadap perlakuan cekaman kekeringan. Respon molekular dan respon morfologis menunjukkan kesesuaian dimana tinggi kecambah dosis 200 Gy konsentrasi 20% mengindikasikan ketahanan dengan tinggi kecambah sebesar 2.75 cm dibandingkan dengan kontrol.

Penggunaan primer OPA 10 menghasilkan 5 fragmen DNA polimorfik dan 7 fragmen DNA monomorfik. Dari lima fragmen DNA polimorfik, empat diantaranya mengalami penambahan pita DNA dan satu diantaranya mengalami kehilangan pita DNA. Pada perlakuan sampel DNA 300 Gy 0%, 300 Gy 10%, 200 Gy 20%, 100 Gy 30% dan 300 Gy 30% mengalami penambahan pita DNA berukuran 250 bp. Penambahan pita DNA diasumsikan terjadi akibat paparan sinar gamma yang mengarah pada perubahan genetik. Menurut Qosim, *et al.*, (2007), ada empat macam perubahan genetik yang mungkin terjadi akibat paparan sinar gamma yaitu perubahan jumlah genom, perubahan jumlah kromosom, perubahan struktur kromosom, dan perubahan gen. Jika iradiasi merusak benang spindel, maka terjadi perubahan jumlah genom yang menyebabkan terjadinya aneuploidi atau hilangnya satu kromosom pada sejumlah pasangan kromosom. Jika iradiasi memutuskan rantai kromosom, maka dapat merubah struktur kromosom (aberasi kromosom) seperti delesi, inversi, duplikasi dan translokasi. Jika iradiasi menyebabkan perubahan pada sekuen DNA, maka disebut mutasi gen.

Penggunaan primer OPD 8 menunjukkan 3 fragmen DNA polimorfik dari 12 fragmen yang muncul. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penggunaan primer OPD 8 menunjukkan polimorfisme yang rendah dibanding primer lain. Rendahnya tingkat polimorfisme dapat disebabkan karena tidak terjadi penempelan primer. Menurut Maesaroh, *et al.*, (2014), pemilihan primer RAPD berpengaruh terhadap polimorfisme sampel karena primer memiliki situs penempelan tersendiri. Sehingga pita DNA polimorfik yang dihasilkan menjadi berbeda baik dalam ukuran banyaknya pasangan basa dan jumlah pita DNA.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan primer OPA 2 diketahui paling efektif dalam menunjukkan keragaman genetik padi varietas Bahbutong. Salah satu polimorfisme yang ditunjukkan pada tiap perlakuan yang terdapat pada tabel 4.7 diduga mewakili ekspresi gen tahan cekaman kekeringan (Kanawapee, *et al.*, 2011). Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui perlakuan iradiasi dosis berapa yang berhasil menginduksi sifat tahan cekaman kekeringan. Informasi mengenai polimorfisme padi varietas Bahbutong dapat dijadikan acuan bagi pemulia tanaman untuk mengembangkan kultivar atau untuk meningkatkan ketahanan dengan melakukan persilangan dengan padi kultivar lain yang membawa sifat unggul.

**Tabel 4.7. Hasil Analisis RAPD padi varietas Bahbutong**

Primer	Konsentrasi PEG (%)	Dosis Iradiasi (Gy)	Status	Jumlah Band (pita)	Keterangan
<b>OPA 02 (TGC CGA GCT G)</b>	0	0	Kontrol	4	-
		100	Polimorfisme	6	Menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 3000 bp dan 5000 bp.
		200	Polimorfisme	6	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 250 bp dan 5000 bp.
		300	Monomorfisme	4	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
	10	100	Polimorfisme	6	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 2000 bp dan 3000 bp.
		200	Monomorfisme	4	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		300	Polimorfisme	7	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 250 bp, 1000 bp dan 5000 bp.
	20	100	Monomorfisme	2	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		200	Polimorfisme	5	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 250 bp, 1000 bp dan 5000 bp.
		300	Polimorfisme	6	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 1000 bp dan 5000 bp.
	30	100	Polimorfisme	6	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 4000 bp dan 5000 bp.

<b>OPA 10 (GTG ATC GCA G)</b>		200	Polimorfisme	7	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 250 bp, 1000 bp dan 5000 bp.
		300	Polimorfisme	7	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 1000 bp, 4000 bp dan 5000 bp.
		0	Kontrol	3	-
	0	100	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		200	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		300	Polimorfisme	6	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 250 bp, 250 - 500 bp dan 1000 bp.
	10	100	Monomorfisme	1	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		200	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		300	Polimorfisme	3	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 250 bp dan 750 – 1000 bp.
	20	100	Monomorfisme	2	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		200	Polimorfisme	4	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 500 bp dan 1000 bp.
		300	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
	30	100	Polimorfisme	5	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 250 bp dan 1000 bp.
		200	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.



<b>OPD 08 (GTG TGC CCC A)</b>	0	300	Polimorfisme	4	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 250 bp dan 1000 bp.
		0	Kontrol	6	-
		100	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		200	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		300	Monomorfisme	4	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
	10	100	Polimorfisme	3	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 750 – 1000 bp.
		200	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		300	Polimorfisme	4	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 250 bp dan 750 – 1000 bp.
	20	100	Monomorfisme	1	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		200	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		300	Polimorfisme	4	Menujukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita pada 750 – 1000 bp.
	30	100	Monomorfisme	0	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		200	Monomorfisme	3	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan ukuran pita DNA.
		300	Momorfisme	0	Tidak menunjukkan perbedaan jumlah dan

---

ukuran pita DNA.

---

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian dosis iradiasi sinar gamma sebesar 100 Gy, 200 Gy, dan 300 Gy tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada parameter viabilitas dan vigoritas dengan nilai  $p \geq 0.05$ .
2. Induksi cekaman kekeringan konsentrasi PEG 30% memberikan pengaruh signifikan ( $p = 0.00$ ) pada parameter daya berkecambah hingga 0%. Sampel perlakuan iradiasi 200 Gy konsentrasi PEG 20% menunjukkan ketahanan dengan tinggi kecambah sebesar 2.75 dibandingkan dengan kontrol.
3. Penggunaan primer OPA 02 diketahui paling efektif dalam menunjukkan polimorfisme DNA padi varietas Bahbutong sebanyak 9 fragmen DNA polimorfik.

#### **5.2 Saran**

Saran yang dapat diberikan yaitu penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjutan antara lain:

1. Perlu dilakukan penambahan waktu inkubasi selama induksi cekaman kekeringan hingga dua minggu agar didapatkan varian tahan kekeringan.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap gen spesifik yang mengontrol ketahanan kekeringan pada padi varietas Bahbutong yang telah di iradiasi.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## DAFTAR PUSTAKA

Abdel-Hady, M.S., Okasha, E.M., Soliman, S.S.A., and Talaat, M. 2008. Effect of Gamma Radiation and Gibberelic Acid on Germination and Alkaloid Production in *Atropa belladonna* Aust. **Journal Basic Applied Sci.** Vol. 2(3): 401 – 405.

Afa, La Ode., Purwoko, Bambang S., Junaedi, Ahmad., Haridjaja, Oteng., dan Dewi, Iswari S. 2012. Pendugaan Toleransi Padi Hibrida Terhadap Kekeringan Dengan Polyetilen Glikol (PEG) 6000. **Jurnal Agrivigor.** Vol. 11(2). Hlm: 292 – 299. ISSN: 1412 – 2286.

Agarwal, M., Shrivastava, N. and Padh, H. 2008. Advances in Molecular Marker Techniques and Their Application in Plant Science. **Plant Cell Reporter**, 27: 617 – 631.

Agnoun, Yves., Biaou, Samadori S.H., Vadouhe, R.S., and Ahanchede, A. 2012. The African Rice *Oryza glaberrima* Steud: Knowledge Distribution and Prospects. **International Journal of Biology.** Vol: 4(3). ISSN: 1916 – 9671.

Ali, Hafsa., Ghori, Zoya., Sheikh, Sandal., and Gul, Alvina. 2016. **Effects of Gamma Radiation on Crop Production.** Springer International Publishing Switzerland.

Anjum, Shakeel A., Xie, Xiao-yu., Wang, Long-chang., Saleem, Muhammad F. Man, Chen., and Lei, Wang. 2011. Morphological, Physiological and Biochemical Responses of Plants to Drought Stress. **African Journal of Agricultural Research.** Vol. 6(9).

Antonio, Amilcar L., Fernandes, Angela., Bento, Albino., Trigo, M. Joao., Botelho, M. Luisa. Quintana, Begona., and Ramalhosa, Elsa. 2013. Gamma Irradiation Preservation of Chestnut Fruits: Effects on Color and Texture. **European Scientific Journal.** Vol. 3. ISSN : 1857 – 7431.

Arve, L.E., Torre, S., Olsen, J.E., & Tanino, K.K. 2011. **Stomatal Responses to Drought Stress and Air Humidity, Abiotic Stress in Plants – Mechanisms and Adaptations**, Arun Shanker and B. Venkateswarlu (Ed). ISBN: 978 – 953 – 307 – 394 – 1.

Ashraf, M., and Fooland, M.R. 2007. Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. **Environmental and Experimental Botany**. Vol. 59. No. 2.

Australian Government. 2005. **The Biology and Ecology of Rice (*Oryza sativa* L.) in Australia**. Department of Health and Ageing Office of The Gene Technology Regulator.

Badan Litbang Pertanian. 2015. **Inpago 7: Beras Merahnya Padi Gogo**. Sinar Tani.

Bhattacharya, Susinjan. 2015. Reactive Oxygen Species and Cellular Defense System. **Free Radicals in Human Health and Disease**.

Basha, P. Osman., Sudarsanam, G., Reddy, M. Madhu Sudhana., and Sankar, N. Siva. 2015. Effect of PEG Induced Water Stress on Germination and Seedling Development of Tomato Germplasm. **International Journal of Recent Scientific Research**. Vol. 6, Issue 5. pp. 4044-4049. ISSN: 0976-3031.

Basu, Supratim., Ramegowda Venkategowda., Kumar, Anuj., and Pereira, Andy. 2016. Plant Adaptation to Drought Stress. **F1000Research**.

Borzouei, A. Kafi, M., Khazaei, H., Naseriyan, B., and Majdabadi, A. 2010. Effects of Gamma Radiation on Germination and Physiological Aspects of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedlings. **Pak. J. Bot.** Vol. 42: 2281 – 2290.

Bray, E.A. 1997. **Plant Responses to Water Deficit**. Trend in Plant Science 2(2): 48 – 54.

Cheema, A.A., Atta, B.M. 2003. Radiosensitivity Studied in Basmati Rice. **Pak. J. Bot.** Vol. 35(2): 197 – 207.

Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., and Shinozaki, K. 2011. Effects of Abiotic Stress on Plants: a System Biology Perspective. **BMC Plant Biol.**, 11: 163.

Dehpour, Abbas A., Gholampour, Mana., Rahdary, Pervaneh., Talubaghi, Mohammad R. J., and Hamdi, Sayed M.M. 2011. **Iranian Journal of Plant Physiology**. Vol. 1(4).

Desai, Aruna, S., and Rao, Srinath. 2014. Effect of Gamma Radiation on Germination and Physiological Aspects of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L.) MilliSp). Seedlings. **IMPACT: International Journal of Research in Applied**. Vol. 2. Issue. 6. PP: 47 – 52. ISSN: 2321 – 8851.

Devereux, R., and Wilkinson, S.S. 2004. **Amplification of Ribosomal RNA Sequences**. Kluwer Academic Publisher: Netherlands.

Dhillon, R.S., Saharan, R.P., Jattan, M., Sheokand, R.N., Dalal, V., and Wuehlisch, George V. 2014. Molecular Characterization of Induced Mutagenesis Through Gamma Radiation Using RAPD Markers in *Jatropha curcas* L. **African Journal of Biotechnology**. Vol. 13(7). ISSN: 1684 – 5315.

Fajarwati, I. L., Restu, M., dan Kusniwinanti, T. 2012. Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex cofassus Reinw*) Serta Analisis Keragaman Genetik dengan Teknik RAPD-PCR. **J. Sains & Teknologi**. Vol. 12. No. 3. ISSN: 1411 – 4674.

Fathi, Amin., and Tari, Davood B. 2016. Effect of Drought Stress and its Mechanism in Plants. **International Journal of Life Sciences**. Vol. 10 (1). ISSN: 2091 – 0525.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A. 2009. Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. **Agron. Sustain. Dev.** 29(2009): 185 – 212.

Gaswanto, Redy., Syukur, Muhamad., Purwoko, Bambang S., and Hidayat, Sri H. 2016. Induced Mutation by Gamma Rays Irradiation to Increase Chilli Resistance to *Begomovirus*. **Agrivita**. Vol. 38(1). ISSN: 0126 – 0537.

Gharoobi, Bagher., Ghorbani, Meysam., and Nezhad, Mostafa G. 2012. Effects of Different Levels of Osmotic Potential on Germination Percentage and Germination rate of Barley, Corn and Canola. **Iranian Journal of Plant Physiology**. Vol. 2(2).

Giono, B. Rini Widiati., BDR, Muh. Farid., Nur, Amin., Solle, Muchtar S., dan Idrus, Izddin. 2014. Ketahanan Genotipe Kedelai Terhadap Kekeringan dan Kemasaman, Hasil Induksi Mutasi Dengan Sinar Gamma. **Jurnal Agroteknos**. Vol. 4. No. 1 Hlm: 44 – 52. ISSN: 2087 – 7706.

Govindaraj, M., Sundaram, P. Shanmuga., Sumathi, P., and Muthiah, A. R. 2010. Simple, rapid and cost effective screening method for drought resistant breeding in pearl millet. **Elctron, J. Plant Breed**. 1: 590 – 599.

Halimursyadah., Hereri, Agam Ihsan., dan Hafnizar, Aira. 2013. Penggunaan *Polyethylene Glycole* Sebagai Media Simulasi Cekaman Kekeringan Terhadap Viabilitas Dan Vigor Beberapa Varietas Benih Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.) Pada Stadia Perkecambahan. **J. Floratek** 8: 73-79.

Hamayun, Muhammad., Khan, Sumera Afzal., Shinwari, Zabta Khan., Khan, Abdul Latif., Ahmad, Nadeem., and Lee, In-Jung. 2010. **Effect of Polyethylene Glycol Induced Drought Stresses on Physio-Hormonal Attributes of Soybean**. 42(2): 977 – 986.



Hameed, Amjad., Shah, Tariq Mahmud., Atta, Babar Manzoor., Haq, M. Ahsanul., and Sayed, Hina. 2008. Gamma Irradiation Effects on Seed Germination and Growth, Protein Content, Peroxidase and Protease Activity, Lipid Peroxidation in Desi and Kabuli Chickpea. **Pak. J. Bot.** Vol. 40(3): 1033 – 1041.

Hamildeldin, Nahla., and Eliva, Noha Eid. 2015. Gamma Irradiation Effect on Growth, Physiological and Molecular Aspects of Mustard Plant. **American Journal of Agricultural Science.** Vol. 2(4): 164-170.

Hanafiah, Diana S., Trikoesoemaningtyas., Yahya, Sudirman., and Wirnas, Desta. 2010. Induced Mutations by Gamma Ray Irradiation to Argomulyo Soybean (*Glycine max*) Variety. **Bioscience.** Vol. 2(3). ISSN: 2987 – 3956.

Harahap, Emi R., Siregar, Luthfi A.M., dan Bayu, Eva S. 2013. Pertumbuhan Akar Pada Perkecambaan Beberapa Varietas Tomat dengan Pemberian Polyethylene Glikol (PEG) Secara *In Vitro*. **Jurnal Online Agroteknologi.** Vol. 1. No. 3. ISSN: 2337-6597.

Harding, S.S., Johnson, S.D., Taylor, D.R., Dixon, C.A., and Turay, M.Y. 2012. Effect of Gamma Rays on Seed Germination, Seedling Height, Survival Percentage and Tiller Production in Some Rice Varieties Cultivated in Sierra Leone. **American Journal of Experimental Agriculture.** Vol. 2(2): 247 – 455.

Hasan, Muhammad Jihadi. 2009. **Prospek Beras Merah di Indonesia.** Universitas Tujuh Belas Agustus.

Hearn, C.J. 2001. Development of seedless grapefruit cultivars through budwood irradiation. **Hortscience,** 20 : 84.

Hemon, A. Farid., Syarifinnur., Ujianto, Lestari., dan Sumarjan. 2012. Uji Toleransi Galur Kacang Tanah Hasil Iradiasi Sinar Gamma Terhadap Larutan Polietilena Glikol. **Jurnal Agrotropika.** Vol. 17. No. 2.

Hendra., Suryaningtyas, Natalia Widya Yuda., Riyanto, Cellica., dan Heryanto, Aditya Fendy. 2013. **Ekstraksi DNA *Collocalia fuchiphaga* dengan Metode *Phenol Chloroform Extraction* dari Berbagai Material Sumber Genetik.** Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

Hendrati, Rina L., Rachmawati, Diah., dan Pamuji, Asri C. 2016. Respon Kekeringan Terhadap Pertumbuhan, Kadar Prolin dan Anatomi Akar *Acacia auriculiformis* Cunn., *Tectona grandis* L., *Alstonia spectabilis* Br., dan *Cedrela odorata* L. **Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea.** Vol. 5. Issue. 2. ISSN: 2407-7860.

Hidayatulloh, Wahyu Aji., Supardi, Suprpti., dan Sasongko, Lutfi Aris. 2012. Tingkat Ketepatan Adaptasi Petani Terhadap Sistem Tanam Jajar Legowo Pada Tanaman Padi Sawah. **Mediagro.** Vol. 8. No. 2. Hlm: 71 – 82.

Hirt, H., and Shinozaki, K. 2003. **Plant Responses to Abiotic Stress.** Springer- Verlag, Berlin Heidelberg.

Hirricks, A., Rami, A., Laajaj, K., Choukr-Allah, R., Jacobsen, S.E., Youssfi, L. El., dan Omari, H. El. 2012. Sweet Corn Water Productivity Under Several Deficit Irrigation Regimes Applied During Vegetative Growth Stage Using Treat Wastewater as Water Irrigation Source. **World Academy of Sci. Eng. And Tech.** 61: 840 – 847.

Ilyas, S. 2012. **Ilmu dan Teknologi Benih.** Bogor: IPB Pr.

Jain, Meeta., Mittal, Mini., and Gadre, Rekha. 2013. Effect of PEG – 6000 Imposed Water Deficit on Chlorophyll Metabolism in Maize Leaves. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry.** Vol. 9 No. 3. Pp. 262-271. ISSN: 1997-0838.

Jogaiah, S., Govind, S.R., and Tran, L.S.P. 2013. Systems biology-based approaches toward understanding drought tolerance in food crops. **Crit. Rev. Biotechnol.**, 33: 23 – 29.

Kadhimi, A.A., Alhasnawi, A.N., Isahak, A., Ashraf, M.F., Mohamad, A., Yusoff, W.M.W., and Zain, C.R.C.M. 2016. Gamma Radiosensitivity Study on MRQ74 and MR269, Two Elite Varieties of Rice (*Oryza sativa* L.). **Life Science Journal**. Vol. 13(2): 85 – 91.

Kadir, A. 2011. Identifikasi Klon Harapan Tanaman Nilam Toleran Cekaman Kekeringan Berdasarkan Kadar Proline dan Karakter Morfologi dan Fisiologi. **Jurnal Agrisistem**. Vol. 7. No. 1

Kanawapee, Nantawan., Sanitchon, Jirawat., Srihaban, Pranee., and Theerakulpisut, Piyada. 2011. Genetic Diversity Analysis of Rice Cultivars (*Oryza sativa* L.) Differing in Salinity Tolerance based on RAPD and SSR Markers. **Electronic Journal of Biotechnology**. Vol. 4(6). ISSN: 0717 – 3458.

Kara, Yesim., Ergun, Zeynep., Vaizogullar, Havser E. 2015. The Effect of Different Gamma Radiation Applied on Tokak-157/37 Barley (*Hordeum vulgare*) and Karahan-99 Wheat (*Triticum aestivum*) on M1 Generation. **International Journal of Secondary Metabolite**. Vol. 2(1).

Karki, Roshan., Pandya, Deep., Elston, Robert C., and Ferlini, Cristiano. 2015. Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics. **BMC Medical Genomics**. Vol. 8(37).

Kaydan, Digdem., and Yagmur, Mehmet. 2008. Germination, Seedling Growth and Relative Water Content of Shoot in Different Seed Sizes of Triticale under Osmotic Stress of Water and NaCl. **African Journal of Biotechnology**. Vol. 7(16). ISSN: 1684 – 5315.

Keshavarzi, Mohammad H. B. 2012. The Effect of Drought Stress on Germination and Early Growth of *Sesamum indicum* Seedling's Varieties Under Laboratory Conditions. **International Journal of Agricultural Management & Development**. ISSN: 2159 – 5860.

Khawar, Affaf., Bhatti, Ijaz A., Khan, Qaiser M., Bhatti, Haq N., and Sheikh, Munir A. 2010. A Germination Test: An Easy Approach to Know The Irradiation History of Seeds. **Pak. J. Agri. Sci.** Vol. 47. No. 3. ISSN: 2076-0906.

Kiong, Anna Ling Pick., Lai, Alvina Grace., Hussein, Sobri., and Harun, Abdul Rahim. 2008. Physiological Responses of *Orthosiphon stamineus* Planlets to Gamma Irradiation. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**.

Kharkwal, M.C., Pandey, R. N. and Pawar, S. E. 2004. **Mutation Breeding for Crop Improvement. In : Plant Breeding Mendelian to Molecular Approaches**. Jain HK, Kharkwal MC (eds), Narosa Publishing House. New Delhi: India. 601 – 645.

Khosravinia, H., Murthy, H.N.N., Parasad, D.T., and Pirany, N. 2007. Optimizing Factors Influencing DNA Extraction from Fresh Whole Avian Blood. **African Journal of Biotechnology**. Vol. 6(4). Pp: 481 – 486.

Kumari, Nandani., and Thakur, Saroj Kumar. 2014. Randomly Amplified Polymorphic DNA-A Brief Review. **Americal Journal of Animal and Veterinary Sciences**. 9 (1): 6 – 13. ISSN: 1557 – 4555.

Kuswanto, H. 1996. **Dasar – dasar Teknologi Produksi dan Sertifikasi Benih**. Edisi ke-1. ANDI: Yogyakarta. Hlm: 190.

Leuner, C., and Dressman, J. 2000. Improving Drug Solubility for Oral Delivery Using Solid Dispersion. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** 50 (3): 47 – 60.

Lesilolo, M.K., Patty, J., dan Tetty, N. 2012. Penggunaan Desikan Abu dan Lama Simpan terhadap Kualitas Benih Jagung (*Zea mays* L.) pada Penyimpanan Ruang Terbuka. **Agrologia.** Vol. 1, No. 1. Hlm: 51 – 59.

Lesilolo, M.K., Riry, J., dan Matatula, E.A. 2013. Pengujian Viabilitas dan Vigor Benih Beberapa Jenis Tanaman yang Beredar di Pasaran Kota Ambon. **Agrologia.** Vol 2(1). Hlm: 1-9.

Levitt, J. 1980. **Responses of Plants to Enviromental Stresses: Water, Radiation, Salt, and Other Stresses.** Vol II. Academic Press. New York-London-Toronto-Sydney-San Fransisco.

Li, Qing-He., Wang, Sai-Xiao., Zhao, Ying-Ming., Xu, Jun., Gao, Ting-Ting., and Ren, Wen-Jiao. 2012. Irradiation Dose and Effect on Germination and Growth of Desert Shrub *Nitraria tangutorum* Borb. with Two Gamma Irradiation Modes. **Pak. J. Bot.** Vol. 44(2): 661 – 666.

Makarim, A. K. 2009. **Morfologi dan Fisiologi Tanaman Padi.** Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. Sukabumi. Subang.

Maluszynski, M. 1995. Application of in vivo and in vitro mutation techniques for crop improvement. **Euphytica**, 85: 303 – 315.

Mapegau. 2006. Pengaruh Cekaman Air Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kedelai. **Jurnal Ilmiah Pertanian KULTURA** 41(1):43 – 51.

Marlina, N., Saputro, E.A., dan Amir, N. 2012. Respons Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Terhadap Takaran Pupuk Organik Plus dan Jenis Pestisida Organik dengan *System of Rice Intensification*

(SRI) di Lahan Pasang Surut. **Jurnal Lahan Suboptimal**. Vol. 1, No.2. ISSN: 2302-3015.

Masruroh, Fitri., Samanhudi., Sulanjari., dan Yunus, Ahmad. 2015. Penggunaan Radiasi Sinar Gamma Untuk Perbaikan Daya Hasil dan Umur Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Ciherang dan Cempo Ireng. **EL-VIVO**. Vol. 3(2). Hlm: 34 – 40. ISSN: 2339 – 1901.

Mathius, N.T., Liwang, T., Danuwikarsa, M.I., Suryatmana, G., Djajasukanta, H., Saodah, D., dan Astika, I.G.P. 2004. **Respons Biokimia Beberapa Progeni Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Terhadap Cekaman Kekeringan Pada Kondisi Lapang**. Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor.

Matsushima, K.I., and Sakagami, J.I. 2013. Effect of Seed Hydropriming on Germination and Seedling Vigor During Emergence of Rice Under Different Soil Moisture Condition. **American Journal of Plant Sciences**. Vol. 4. Pp: 1584 – 1593.

McDonald, D.J. 1979. Rice. Chapter 3. In: **Australian Field Crops Vol 2: Tropical Cereals, Oilseeds, Grain Legumes and Other Crops**. London: Angus and Robertson. Pp: 70 – 94.

Minisi, F.A., El-Mahrouk, M.E., Rida, M.E.F., and Nasr, M.N. 2013. Effects of Gamma Radiation on Germination, Growth Characteristics and Morphological Variations of *Moluccella laevis* L. **American-Eurasian J. Agric & Environ. Sci**. Vol. 13(5): 696 – 704. ISSN: 1818 – 6769.

Mohammadkhani, Nayer., and Heidari, Reza. 2008. Water Stress Induced by Polyethylene Glycol 6000 and Sodium Chloride in Two Maize Cultivars. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. Vol. 11(1).

Moldenhauer, K.A.K., and Gibbons, J.H. 2003. **Rice Morphology and Development**. P. 103 – 127. John Wiley and Sons.

Mondini, L., Noorani, A., and Pagnotta, M.A. 2009. **Assessing Plant Genetic Diversity by Molecular Tools**. *Diversity*, 1: 19 – 35.

Muladno, 2002. **Seputar Teknologi Rekayasa Genetika**. Pustaka Wirausaha Muda: Bogor.

Naluri, Susi., Riptanti, Erlyna Wida., dan Ani, Susi Wuri. 2012. **Analisis Komparatif Usaha Tani Beras Merah Organik (*Oryza nirvara*) dan Beras Putih Organik (*Oryza sativa*)**. Universitas Sebelas Maret.

Naiola, B.P. 2005. Akuulasi dan Regulasi Osmotik dalam Sel Tumbuhan pada Kondisi Stress Air. **Berita Biologi**. Vol. 7. No. 6.

Nepal, S., Ojha, B.R., Meador, A.J.S., Gaire, S.P., and Shilpakar, C. 2014. Effect of Gamma Rays on Germination and Photosynthetic Pigments of Maize (*Zea mays* L.) Inbreds. **International Journal of Research**. Vol. 1(5): 511 – 525.

Nurmalasari, Intan Rohma., Purwanto, Edi., dan Pardono. 2015. Kajian Ketahanan Terhadap Cekaman Air Pada Padi Hitam dan Padi Merah. **EL-VIVO**. Vol. 3. No. 1. Hlm: 25 – 33. ISSN: 2339 – 1901.

Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., and P.Tran, Lam-Son. 2014. **Response of Plants to Water Stress**. *Frontiers in Plant Science*.

Pancaningtyas, Sulistyani., Santoso, Teguh I., dan Sudarsianto. 2014. Studi Perkecambahan Benih Kakao Melalui Metode Perendaman. **Pelita Perkebunan**. 30(3).

Piri, Issa., Babayan, Mehdi., Tavassoli, Abolfazi., and Javaheri, Mehdi. 2011. The Use of Gamma Irradiation in Agriculture. **African Journal of Microbiology Research**. Vol. 5(32). ISSN 1996-0808.

Poerba, Yuyu Suryasari. 2007. Studi Keragaman Genetik Pulau (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) Berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphic DNA. **Jurnal Ilmiah Nasional** Vol. 8 No. 5. ISSN 0126 – 1754.

Poerba, Yuyu Suryasari., Imelda, Maria., dan Martanti, Diyah. 2012. Analisa Kestabilan Genetik Pisang Kepok ‘Unti Sayang’ Hasil Mikropropagasi dengan Marka RAPD dan ISSR. **Berita Biologi**. 11(2).

Riduan, A., Aswidinnoor, H., Koswara, J., dan Sudarsono. 2005. **Toleransi Sejumlah Kultivar Kacang Tanah Terhadap Cekaman Kekeringan**. Departemen Budidaya Pertanian, Faperta, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor.

Romdon, Anggi Sahru., Kurniyati, Elly., Bahri, Syamsul., dan Pramono, Joko. 2014. **Kumpulan Deskripsi Varietas Padi**. Ungaran: BPTP Jateng. ISBN: 978 – 979 – 9007 – 79 – 7.

Rosmaina., Zulfahmi dan Handoyo, Desen. 2013. Kekerabatan Genetik Tanaman Jambu Bol (*Syzygium malaccense* [L.] Merr & Perry) Berdasarkan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). **J. Agrotek. Biotrop**. 2(1): 6 – 10.

Rusd, Ahmad Muharram Ibnu. 2011. Pengujian Toleransi Padi (*Oryza sativa* L.) Terhadap Salinitas Pada Fase Perkecambahan. **Skripsi**. Departemen Agronomi dan Holtikultura. Fakultas Pertanian: Institut Pertanian Bogor.

Sakr, Akmal Ali., Ghaly, Mohamed Farouk, and Ali, Mona Foad. 2013. The Use of Gamma Irradiation in The Sterilization of *Streptomyces* Colonizing The Tempra Paintings in Ancient



Egyptian Tombs. **International Journal of Conservation Science**. Vol. 4. Issue. 3. Pp : 283 – 294. ISSN: 2067 – 533X.

Sadjad, S. 1993. **Dari Benih Kepada Benih**. PT Grasindo: Jakarta.

Sani, Douda O., and Boureima, Mohamadou M. 2014. Effect of polyethylene glycol (PEG) 6000 on germination and seedling growth of pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] and Ld50 for in *vitro* screening for drought tolerance. **African Journal of Biotechnology**. Vol. 13(37).

Sanjeev, S., Richharia, A.K. Joshi, A.K. 1998. An Assessment of Gamma Ray Induced Mutation in Rice (*Oryza sativa* L.). **Indian J. Genetic**. Vol. 58: 455 – 463.

Sanseya, Sompong., Hua, Yanling., Chumanee, Saowapa., Phasai, Kannika., and Sricheewin, Chanun. 2017. Effects of Gamma Irradiation on 2-Acetyl-1-pyrroline Content, GABA Content and Volatile Compounds of Germinated Rice (Thai Upland Rice). **Plants**. 6(18).

Saputro, T. B. 2012. Multiplikasi Tunas pada Mikropropagasi Tanaman Transgenik Anggrek *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Pembawa 35S: KNATI pada Media Tanpa Fitohormon. **Tesis**. Yogyakarta: Program Studi Bioteknologi. Universitas Gadjah Mada.

Sasikala, R., and Kalaiyarasi, R. 2010. Sensitivity of Rice Varieties to Gamma Irradiation. **Electronic Journal of Plant Breeding**. Vol. 1(4): 885 – 889.

Sarawgi, A.K. and Soni, D.K. 1993. Induced Genetic Variability in M1 and M2 Population of Rice (*Oryza sativa* L.). **Advanced in Plant Science**. Vol. 6: 24 – 33.

Sareen, S., and Koul, A.K. 1999. Mutation Breeding in Improvement of *Plantago ovate* Forsk. **Indian J. Genetic**. Vol. 59: 337 – 344.

Saxena, Akansha. 2014. Save The Red Rice: A Unique Gift of Nature. **International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology**. Vol. 1 No. 5. Pp: 32 – 34.

Shukla, Rinku V., Shah, Avani P., Shah, Priyanka, V., and Gupte, Snahalata, C. 2016. Effect of Gamma Irradiation on Cytokines Released by Planlets During Storage. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**. Vol. 9: 15 – 19.

Simanjuntak, L. 2010. **Usaha Tani Terpadu Padi, Azolla, Tiktok dan Ikan**. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Sinay, Hermalina. 2015. Pengaruh Perlakuan Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Prolin Pada Fase Vegetatif Beberapa Kultivar Jagung Lokal Dari Pulau Kisar Maluku di Rumah Kaca. **Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi**.

Siregar, Ulfah Juniarti., dan Olivia, Ranny Dwita. 2012. **Keragaman Genetik Populasi Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) pada Hutan Rakyat di Jawa Berdasarkan Penanda RAPD**. Institut Pertanian Bogor.

Subantoro, Renan., dan Prabowo, Rossi. 2013. Pengkajian Viabilitas Benih Dengan Tetrazolium Test Pada Jagung dan Kedelai. **Mediagro**. Vol. 9. No. 2. Hlm: 1 – 8.

Suliartini, Ni Wayan Sri., Sadimantara, Gusti R., Wijayanto, Teguh., dan Muhidin. 2011. Pengujian Kadar Antosianin Padi Gogo Beras Merah Hasil Koleksi Plasma Nutfah Sulawesi Tenggara. **Crop Agro**. Vol. 4. No. 2. Hlm: 43 – 48.

Sulistianingsih, Rahayu., Purwanto, Aziz., Mangoendidjojo, Woerjono., dan Semiarti, Endang. 2012. Variasi Genetik Anggrek Aalam *Phalaenopsis amabilis* L. Blume Hasil Iradiasi Sinar Gamma. **Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi**. Vol. 8 No. 1. ISSN: 1907 – 0322.

Sulistiyawati, Purnamila., Widyatmoko, AYPBC., Nurtjahjaningsih, ILG. 2014. Keragaman Genetik Anakan *Shorea leprosula* Berdasarkan Penanda Mikrosatelit. **Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan**. Vol. 8. No. 3. 171 – 183.

Sujinah dan Jamil, Ali. 2016. Mekanisme Respon Tanaman Padi Terhadap Cekaman Kekeringan dan Varietas Toleran. **IPTEK Tanaman Pangan**. Vol. 11(1).

Surya, M. Imam., dan Soeranto, H. 2006. Pengaruh Iradiasi Gamma Terhadap Pertumbuhan Sorgum Manis (*Sorghum bicolor* L.). **Risalah Seminar Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi**. Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN.

Sutopo, L. 1988. **Teknologi Benih**. CV Rajawali: Jakarta.

Sutopo, L. 2002. **Teknologi Benih**. PT Raja Grafindo Persadar: Jakarta.

Soedjono, S. 2003. Aplikasi Mutasi Induksi dan Variasi Somaklonal Dalam Pemuliaan Tanaman. **Jurnal Litbang Pertanian**. 22(2): 71 – 75.

Sokoto, M.B., and Muhammad, A. 2014. Response of Rice Varieties to Water Stress in Sokoto, Sudan Savannah, Nigeria. **Journal of Biosciences and Medicines**. Vol. 2: 68 – 74.

Syafruddin dan Miranda, Taqur. 2015. Vigor Benih Beberapa Varietas Jagung Pada Media Tanam Tercemar Hidrokarbon. **J. Floratek** 10. Hlm: 18 – 25.

Szilgyi, L. 2003. Influence of drought on seed yield components in common bean. **Bulg. J. Plant. Physiol.**, Special Issue, 320 – 330.

Utami, Sri. 2013. Uji Viabilitas dan Vigoritas Benih Padi Lokal Ramos Adaptif Deli Serdang dengan Berbagai Tingkat Dosis Iradiasi Sinar Gamma di Persemaian. **Agrium**. Vol. 18(2): 158 – 161.

Toosi, Abbas Fallah., Bakar, Baki Bin., and Azizi, Mehdi. 2014. Effect of Drought Stress by Using PEG 6000 on Germination and Early Seedling Growth of *Brassica juncea* Var. Ensabi. **Scientific Papers. Series A. Agronomy**. Vol LVII. ISSN; 2285-5807.

Tripathi, K.K., Govila, O.P., Warriar, R., and Ahuja, V. 2011. **Biology of *Oryza sativa* L. (Rice)**. India: Ministry of Environment and Forest Government of India.

Wardani, Fitri Fatma., dan Latifah, Dian. 2016. Perkecambahan Biji *Dictyoneura acuminata* Blume. Pada Cahaya Merah dan Merah Jauh. **J. Hort. Indonesia**. Vol. 7(1): 49 – 55.

Weller, P. J., Rowe, R. C., and Sheskey, P.J. 2003. **Handbook of Pharmaceutical Excipient 4<sup>th</sup> Edition**. The Pharmaceutical Press: London.

Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucl. Acids Res.**, 18: 7213 – 7218.

Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., and Kahl, G. 2005. **DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and Applications**. Second Edition. Taylor & Francis Group. Boca Raton.

Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalsky, J.A., and Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary

primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acid Research** **18**. ISSN: 6531 – 6535.

Winata, Nanung, A., Basunanda, Panjisakti., dan Supriyanta. 2014. Tanggapan Dua Puluh Lima Kultivar Padi (*Oryza sativa* L.) Terhadap Infeksi Cendawan Mikoriza Arbuskular. **Vegetalika**. Vol. 3 No. 3. Hlm: 38 – 48.

Wopereis, Marco C.S. 2009. **Curriculum for Participatory Learning and Action Research (PLAR) for Integrated Rice Management (IRM) in Inland Valleys of Sub-Saharan Africa: Technical Manual**. Africa Rice Center (WARDA): Benin. ISBN: 92 9113 3248.

Yu, Ping., Yuan, Xiao-ping., Xu, Qun., Wang, Cai-hong., Yu, Han-yong., Wang, Yi-ping., Tang, Sheng-xiang., and Wei, Xing-hua. 2013. Genetic Structure and Indica/Japonica Component Changes in Major Inbred Rice Varieties in China. **Rice Science**, 20 (1); 39-44. China National Rice Research Institute.

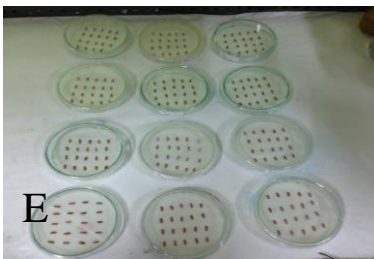
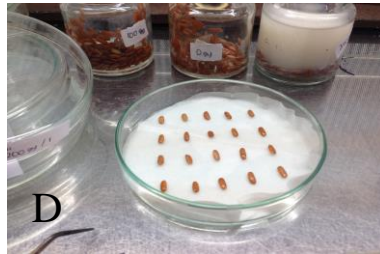
Zhang, L., Peng, J., Chen, T.T., Zhao, X.H., Zhang, S.P., Liu, S.D., Dong, H.L., Feng, L., and Yu, S.X. 2014. Effect of Drought Stress on Lipid Peroxidation and Proline Content in Cotton Roots. **The Journal of Animal & Plant Sciences**. Vol. 24(6). ISSN: 1018 – 7081.

Zulfahmi. 2013. Penanda DNA Untuk Analisis Genetik Tanaman. **Jurnal Agroteknologi**. Vol. 3 No. 2: 41 – 52.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Pengujian Vigoritas dan Viabilitas Padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong



- Keterangan:
- a. Benih direndam dengan air mengalir  $\pm$  4 jam
  - b. Benih direndam dengan sabun cair  $\pm$  15 menit
  - c. Benih direndam dengan anti-fungal  $\pm$  15 menit
  - d. Benih ditanam di kertas saring yang dibasahi
  - e. Cawan Petri disusun secara acak

**Lampiran 2. Hasil Analisis Statistika Daya Berkecambah Padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong menggunakan software SPSS**

DayaBerkecambah			
Perlakuan		N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan <sup>a</sup>	0	3	93.3333
	200	3	93.3333
	300	3	96.6667
	100	3	98.3333
	Sig.		.242
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ANOVA					
DayaBerkecambah					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56.250	3	18.750	.900	.482
Within Groups	166.667	8	20.833		
Total	222.917	11			



**Lampiran 3. Hasil Analisis Statistika Laju Perkecambahan Padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong menggunakan software SPSS**

lajuPerkecambahan		
Duncan <sup>a</sup>		
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
0	3	2.0667
100	3	2.1333
200	3	2.1333
300	3	2.1500
Sig.		.425
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.		

ANOVA					
lajuPerkecambahan					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.012	3	.004	.312	.816
Within Groups	.105	8	.013		
Total	.117	11			

**Lampiran 4. Hasil Analisis Statistika Keserempakan Tumbuh Padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong menggunakan software SPSS**

KeserempakanTumbuh		
Duncan <sup>a</sup>		
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
300	3	96.6667
200	3	98.3333
0	3	100.0000
100	3	100.0000
Sig.		.097
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.		

ANOVA					
KeserempakanTumbuh					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.917	3	7.639	1.833	.219
Within Groups	33.333	8	4.167		
Total	56.250	11			

## Lampiran 5. Pembuatan Larutan PEG



- Keterangan:
- a. Kapas ditimbang tiap perlakuan seberat 3 gram
  - b. Konsentrasi PEG 10% ditimbang dengan berat 10.50 gram per 100 ml air.
  - c. Konsentrasi PEG 20% ditimbang dengan berat 20.50 gram per 100 ml air.
  - d. Konsentrasi PEG 30% ditimbang dengan berat 30.50 gram per 100 ml air.
  - e. Benih yang diberi perlakuan disusun acak.

**Lampiran 6. Hasil Analisis Statistika Persentase Daya Berkecambah Padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong Setelah Dicekam menggunakan *software* SPSS**

<b>Daya_Berkecambah</b>			
Duncan <sup>a</sup>			
Konsentrasi_Cekaman	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
30	4	11.25	
0	4		95.00
20	4		95.00
10	4		100.00
Sig.		1.000	.303
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.			

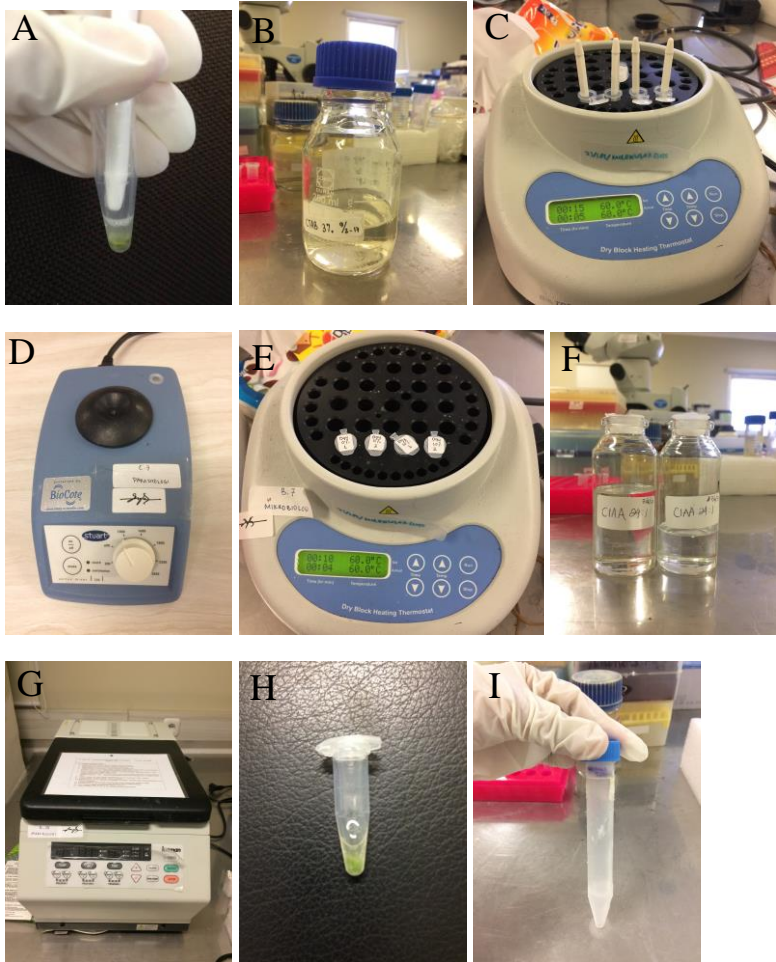
<b>ANOVA</b>					
Daya_Berkecambah					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	21954.688	3	7318.229	187.347	.000
Within Groups	468.750	12	39.063		
Total	22423.438	15			

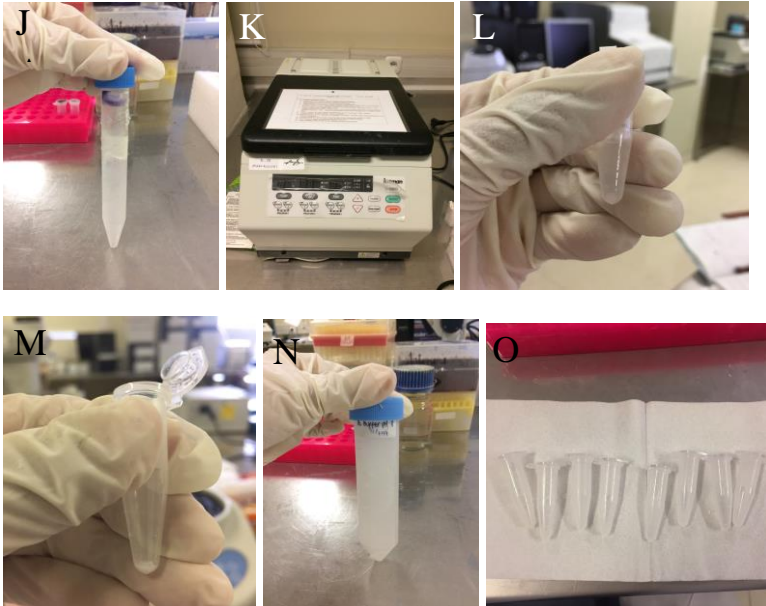
**Lampiran 7. Hasil Analisis Statistika Tinggi Kecambah Padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong Setelah Dicekam menggunakan software SPSS**

Tinggi_Kecambah				
Duncan <sup>a,b</sup>				
Cekaman_PEG	N	Subset		
		1	2	3
30	80	.0213		
20	80		2,5063	
10	80			3,3763
0	80			3,3838
Sig.		1.000	1.000	.956
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .754.				
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 80.000.				
b. Alpha = .05.				

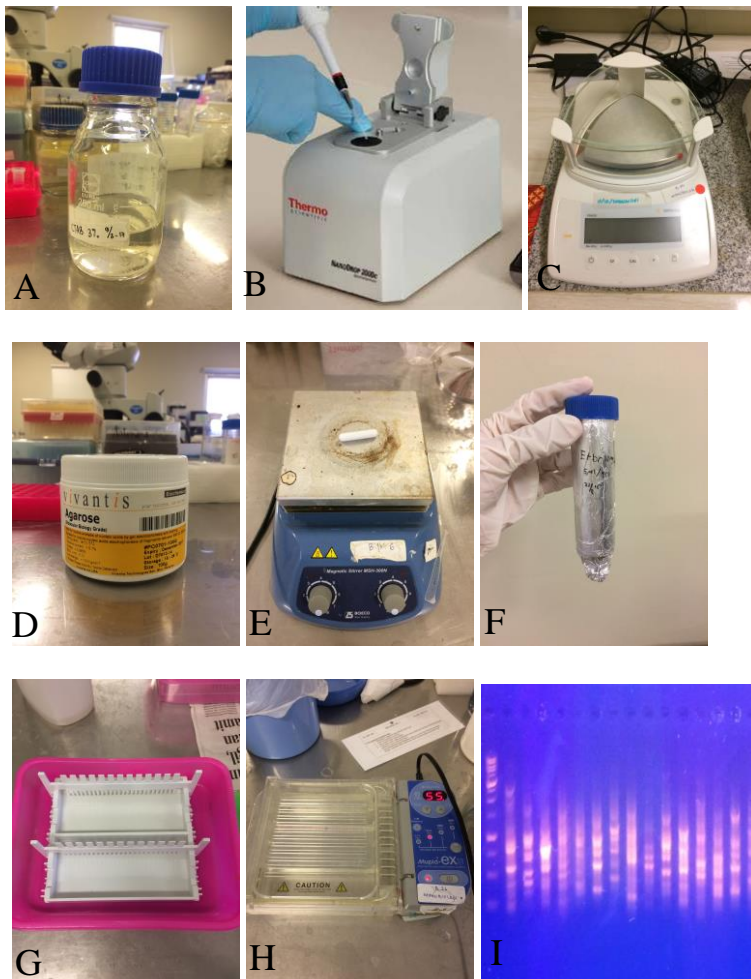
Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Tinggi_Kecambah					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	745.919 <sup>a</sup>	15	49.728	65.995	.000
Intercept	1725.153	1	1725.153	2289.480	.000
Dosis_Iradiasi	46.003	3	15.334	20.350	.000
Cekaman_PEG	605.292	3	201.764	267.765	.000
Dosis_Iradiasi * Cekaman_PEG	94.624	9	10.514	13.953	.000
Error	229.068	304	.754		
Total	2700.140	320			
Corrected Total	974.987	319			
a. R Squared = .765 (Adjusted R Squared = .753)					

## Lampiran 8. Tahapan Proses Ekstraksi DNA





Keterangan: a. Plumula kecambah digerus sebanyak 55–80 mg  
 b. CTAB 3% 200µl digunakan sebagai pelarut  
 c. Plumula diinkubasi di *waterbath* suhu 60°, 15 menit  
 d. Hasil ekstrak sesekali di *vortex*  
 e. Plumula diinkubasi di *waterbath* suhu 60°, 10 menit  
 f. Ditambahkan CIAA sebanyak 500 µl  
 g. Ekstrak disentrifugasi selama 10 menit, 5000 rpm  
 h. Supernatan dipindahkan ke *microtube* baru  
 i. Ditambahkan etanol absolut dingin (1:1), *overnight*  
 j. Etanol absolut dibuang, ditambahkan etanol 70% 500 µl  
 k. Ekstrak disentrifugasi selama 10 menit, 12000 rpm  
 l. Supernatan dibuang  
 m. Pellet dikeringkan  
 n. Pellet ditambahkan TE buffer ph 8 sebanyak 50µl  
 o. Pellet disimpan di kulkas suhu -20°C

**Lampiran 9. Pengujian Kualitas dan Kuantitas DNA**

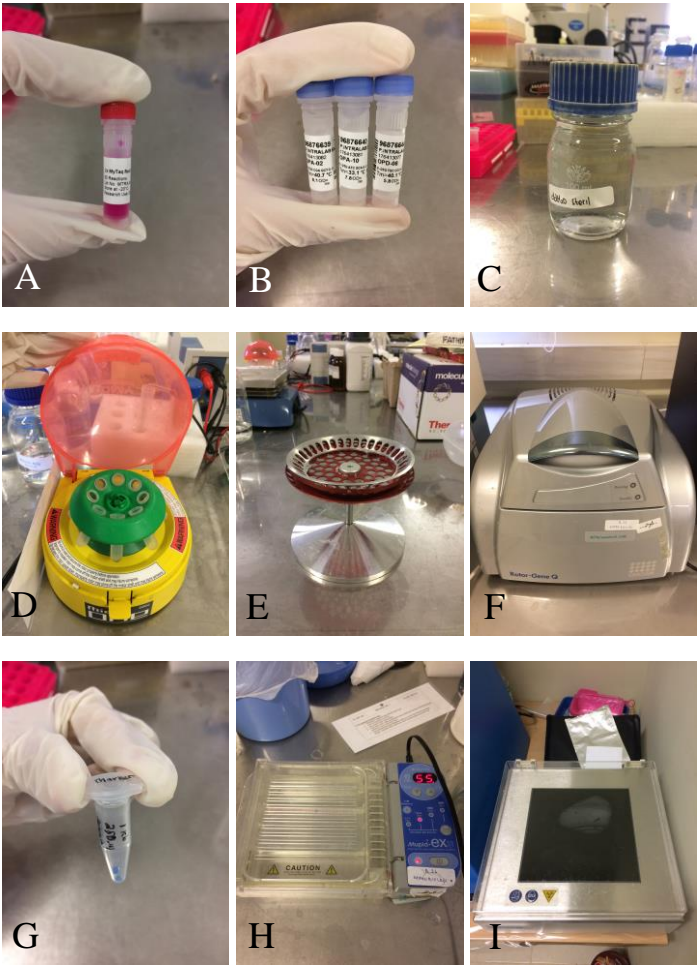


- Keterangan:
- a. CTAB 3% digunakan sebagai blanko
  - b. *Thermo scientific nanodrop 2000* digunakan sebagai alat uji kualitas DNA
  - c. Neraca analitik digunakan untuk menimbang agarose
  - d. Agarose digunakan sebagai gel pematat sampel DNA
  - e. Agarose dilarutkan dengan CTAB 3% lalu dipanaskan di *hot plate magnetic stirrer*
  - f. Setelah larutan bening, ditambahkan EtBr 5% sebanyak 5 $\mu$ l
  - g. Gel agarose dicetak di cetakan gel
  - h. Ekstrak DNA dielektroforesis dengan gel agarose 0.8% dalam TBE 0.5x, tegangan 100 volt, selama 15 menit
  - i. Hasil kualitas DNA divisualisasikan dengan UV light transiluminator biostep

### Lampiran 10. Data Hasil Uji Kualitas DNA

No.	Kode Sampel	Konsentrasi DNA (ng/μl)	A260	A280	260/280
1.	0 Gy 0%	287.3	5.746	3.299	1.74
2.	100 Gy 0%	380.9	7.618	4.514	1.69
3.	100 Gy 10%	60.62	1.212	0.706	1.72
4.	100 Gy 20%	223.78	4.476	2.750	1.63
5.	100 Gy 30%	154.47	3.089	1.816	1.70
6.	200 Gy 0%	216.4	4.328	2.279	1.90
7.	200 Gy 10%	131.89	2.638	1.466	1.80
8.	200 Gy 20%	235.64	4.713	2.537	1.86
9.	200 Gy 30%	258.34	5.167	2.849	1.81
10.	300 Gy 0%	217.55	4.351	2.701	1.61
11.	300 Gy 10%	262.56	5.251	3.065	1.71
12.	300 Gy 20%	241.32	4.826	2.698	1.79
13.	300 Gy 30%	333.15	6.663	3.859	1.73

**Lampiran 11. Tahapan Proses Analisis Polimorfisme RAPD**



- Keterangan:
- a. Bioline MyTaq Red Mix (2x) digunakan sebagai PCR mix sebanyak 12.5µl.
  - b. Primer OPA 02, OPA 10, dan OPD 08 sebanyak 1.5µl
  - c. DDH<sub>2</sub>O digunakan sebanyak 10µl
  - d. Sampel dihomogenkan dengan menggunakan *spin down*
  - e. Sampel DNA disusun di *ring* PCR
  - f. Sampel DNA dianalisis dengan menggunakan PCR rotor-gene Q
  - g. Marker DNA
  - h. Hasil PCR dielektroforesis dengan gel agarose 1% dalam TBE 0.5x selama 60 menit, tegangan 50 volt
  - i. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV light transiluminator Biostep

## BIODATA PENULIS



Pinka

Langlangdewi

Nurrachmamila lahir di Bukittinggi pada tanggal 6 Januari 1996. Pendidikan penulis dimulai di TK Pembina, Tanjung Pinang, SD 016 Sekip Pekanbaru, SMPN 1 Pekanbaru, SMAN 2 Kota Tangerang Selatan dan mengambil jenjang pendidikan di Program Studi S1 Departemen Biologi FMIPA ITS Surabaya. Selama kuliah, penulis aktif dalam organisasi intrakampus. Pada tahun 2015 penulis mengasah kemampuan

*softskill* di BEM FMIPA ITS sebagai staff Departemen Hubungan Luar dan di HIMABITS sebagai staff Departemen Kesejahteraan Mahasiswa. Selain mengasah kemampuan *softskill* di organisasi intrakampus, penulis juga membangun koneksi diluar kampus dengan menjadi salah satu *volunteer* di organisasi non-profit TEDx Tugu Pahlawan sebagai anggota divisi Communication and Marketing. Di tahun 2016, penulis diamanahi menjadi ketua departemen kesejahteraan mahasiswa di Himpunan Mahasiswa Biologi ITS dan sebagai Ketua Tim Produksi dan Sponsorship majalah Biogonal. Penulis menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Pemanfaatan Teknik RAPD dalam Deteksi Keragaman Genetik Padi (*Oryza sativa* L.) varietas Bahbutong Tahan Cekaman Kekeringan Hasil Iradiasi”. Diharapkan penelitian ini dapat berguna untuk ilmu pengetahuan dan menambah informasi mengenai padi varietas Bahbutong. Disadari bahwa penelitian saya masih memiliki banyak kekurangan. Apabila ada kritik dan saran dapat disampaikan melalui email [LNpinka@gmail.com](mailto:LNpinka@gmail.com).